

血中エリスロポエチン(EP0)濃度の基準値設定と各種貧血,多血病態における臨床的意義

著者	穴戸 友明
学位授与機関	Tohoku University
URL	http://hdl.handle.net/10097/54925

博士論文

血中エリスロポエチン(EPO)濃度の基準値設定と
各種貧血、多血病態における臨床的意義

東北大学医学部附属病院第二内科

宍戸友明

①

博士論文

血中エリスロポエチン(EPO)濃度の基準値設定
と各種貧血、多血病態における臨床的意義

東北大学医学部附属病院第二内科

宍戸 友明

目 次

- I 緒言
- II 対象ならびに方法
 - 1. 対象
 - 1) 健常人
 - 2) 貧血症例
 - 3) 多血症例
 - 2. 血中EPO濃度測定法
 - 1) Enzymeimmunoassay (EIA)法
 - 2) Anemic mouse spleen cell (AMSC)法
 - 3) Radioimmunoassay (RIA)法
 - 3. 血中EPO濃度基準値設定
- III 結果
 - 1. 各種EPO測定法--EIA法とAMSC法、RIA法との比較検討
 - 2. 健常人における生理的変動
 - 3. 基準値の設定
 - 4. 貧血疾患での検討
 - 1) 再生不良性貧血(再不貧)
 - 2) 骨髓異形成症候群(MDS)
 - 3) 溶血性貧血、Anemia of chronic disorder (ACD)、慢性腎不全(CRF)
 - 4) 甲状腺機能亢進症、低下症
 - 5) 骨髓移植(BMT)および化学療法施行例
 - 5. 多血疾患での検討
 - 1) 真性多血症(PV)、二次性、相対的多血症
 - 2) 偽性副甲状腺機能低下症(PHP)
- IV 考察
- V 結語
- VI. 図表
- VII文献

I. 緒言

エリスロポエチン (EPO) は赤血球の産生を一次的に調節している分子量約34,000の糖蛋白であり、体内の酸素要求量に応じて主に腎臓で産生される¹⁾⁻³⁾。ヒトのEPOは1977年に宮家らにより尿から純化され¹⁾、1985年LinらとJacobsらによる遺伝子のクローニング^{4) 5)}により現在では大量に入手することが可能となった。

一方血中EPO濃度は、ヘモグロビン(Hb)濃度によって鋭敏に変化し、組織への酸素供給と赤血球産生を結ぶ恒常性維持回路の重要な一部分を呈示している⁶⁾⁻⁸⁾。そこで血中EPO濃度を測定し貧血、多血をもたらす種々疾患の病態を、この調節機構とその破綻の両側面から把握するために、単に絶対値で健常人レベルと比較するだけでなく相対的基準値の設定が必要と考えられる。基準値の設定にあたり造血調節機構と赤芽球系幹細胞の分化増殖

に本質的な破綻はないとされている⁹⁾ 鉄欠乏性貧血（鉄欠貧）と健常人とを対照とした。このように血中EPO濃度をそのHb濃度に対応する基準EPO値から評価することにより、病態把握と治療を行う際の血中EPO濃度の測定意義が一層拡大されると考えられる。

しかし測定法については、従来の飢餓ラットや多血マウスを用いる*in vivo*測定法¹⁰⁾⁻¹³⁾では測定感度が低く、血中EPO濃度を臨床診断に応用することは困難であった。近年、高感度で特異性の高いradioimmunoassay (RIA)法による血中EPO濃度測定法が開発され、透析患者や貧血患者の血中EPO濃度が容易に測定されるようになっているが¹⁴⁾¹⁵⁾、放射性同位元素を用い繁雑な手技を要するという難点がある。今回、著者は純化EPOを抗原として得られた抗EPO抗体を用いたenzyme-immunoassay (EIA)法¹⁶⁾⁻¹⁸⁾を、従来の測定法と比較検討し、さらに血中EPO濃度測定時

の諸条件の検討、またHb濃度に依存した生理的なEPO基準値を設定して各種貧血、多血病態におけるその臨床的意義について論じた。

II. 対象ならびに方法

1. 対象

1) 健常人

対象は男性53例、女性69例、計122例でいずれも末梢血中の白血球数、赤血球数、Hb濃度、血小板数に異常なく、腎機能も正常な例とした。年齢は10才から89才（平均48才）であった。上記健常人を対象とし血中EPO濃度の性別による影響、年齢による影響、Hb濃度による影響、肥満による影響、喫煙による影響、日内変動について検討した。

a. 肥満による影響

体重は（身長－100）×0.9Kgを標準体重として肥満度により3群に分類した。肥満度は（実測体重－標準体重）÷標準体重×100（%）で算出し、評価可能な対象は－20%以下：2例、－20%～＋20%：16例、＋20%以上：12例であった。

b. 喫煙の影響

喫煙の影響も検討するため1日40本以上の喫煙者群：15例と、非喫煙者群：19例に分類し検討した。

c. 日内変動

血中EPO濃度の日内変動に関しては、有志健常人5例についてそれぞれ24時間のうち連続的に16:30、18:00、21:00、23:00、3:00、7:30、9:00、11:30、13:00、16:30の計10回採血し血中EPO濃度測定に供した。

2) 貧血症例

a. 鉄欠乏性貧血（鉄欠貧）

WHOの基準¹⁹⁾に準拠して診断した、未治療あるいは鉄剤投与後早期の鉄欠貧患者男性22例女性83例計105例を対象とし、検体採取と同時に末梢血血算を施行した。

b. 再生不良性貧血（再不貧）

厚生省特定疾患研究班の診断基準²⁰⁾により診断した重症6例、中等症10例、軽症11例の未治療再不貧患者計27例を対象とした

(Table 1)。

c. 骨髓異形成症候群 (MDS)

FAB分類 (1982年)²¹⁾に基づき

refractory anemia(RA)11例、primary
acquired sideroblastic anemia (PASA)
1例、RA with excess blasts (RAEB) 8例、
chronic myelomonocytic leukemia

(CMMoL) 5例、RAEB in transforma-
tion (RAEB-T) 3例の未治療MDS計28例を
対象とした (Table 2)。

d. 溶血性貧血、Anemia of chronic dis-
order (ACD)、慢性腎不全 (CRF)

溶血性貧血患者は自己免疫性溶血性貧血
(AIHA) 4例、Evans症候群1例、慢性炎症
に伴う貧血患者として全身性エリテマトーデ
ス (SLE) 2例、慢性関節リウマチ (RA) 6例、
尿路感染症 (UTI) 1例、肺炎1例 (Table 3)。
また透析中の患者4例 (輸血依存例) を含む貧
血を有す慢性腎不全患者20例を対象とした。

e. 甲状腺機能亢進症、低下症

未治療の甲状腺機能亢進症19例 (Table 4)、また未治療の甲状腺機能低下症8例 (Table 5) を対象とした。このうち、甲状腺機能亢進症11例、甲状腺機能低下症7例については治療前と後の検討も加えた。貧血は当施設での基準によりHb濃度で男性12.4 g/dl未満、女性11.3 g/dl未満とした。

f. 骨髄移植 (BMT) および化学療法施行例

同種骨髄移植を施行した慢性期CML 3例、悪性リンパ腫1例、同系骨髄移植を施行したAML M1 1例を対象とした。対照群は通常の化学療法を施行した悪性リンパ腫 2例、AML 4例とした (Table 6)。検体は前処置開始前のday-10よりday100まで週3回採血し、血清分離後-80℃に凍結保存し測定に供した。またHb濃度が8.0 g/dl以上を維持するように白血球除去赤血球を輸血した。

3) 多血症例

a. 真性多血症 (PV)、二次性、相対的多血症

polycythemia vera study group,
(1968年) の診断基準²²⁾に基づく真性多血症 (PV) 16例、二次性多血症5例、相対的多血症4例を対象とした (Table 7)。PVのうち3例は瀉血による治療中であつた。多血症は当施設での測定値よりHb濃度で男性17.2 g/dl以上、女性14.9 g/dl以上とした。

b. 偽性副甲状腺機能低下症 (PHP)

対象はビタミンD3治療を受けている偽性副甲状腺機能低下症 (PHP) 1型6例で (Table 8)、対照として特発性副甲状腺機能低下症 (IHP) 16例、二次性副甲状腺機能低下症 (SHP) 5例、原発性副甲状腺機能亢進症 (HPT) 5例で検討した。

2. 血中EPO濃度測定法

1) Enzyme immunoassay (EIA) 法

EIA法は後藤、上田らの方法に従つた¹⁶⁾。

まず、抗EPOモノクローナル抗体R6（雪印乳業生物科学研究所より供与）を用い、96穴microplateをcoatingした。その中へtest sampleを入れ、室温で2時間incubateし、洗浄後、アルカリフォスファターゼでラベルした抗EPOモノクローナル抗体R2（雪印乳業生物科学研究所より供与）を加え、室温で2時間incubate、洗浄後、基質を加え、室温で20-30分incubateし、発色したところを405nmの波長でODを測定した。血漿および血清EPO濃度（血中EPO濃度）は標準EPOを用いて作成した用量反応曲線より算出した（Fig. 1）。

2) Anemic mouse spleen cell (AMSC) 法
in vitro bioassay 法は桜井らのAMSC法¹¹⁾に準じた。まずマウス腹腔内にphenylhydrazine HCl 60mg/kgを注射し、5日目に脾を摘出した。脾細胞はIMDMで $4 \times 10^6/\text{ml}$ に調整し、0.1mM 2ME, 20%

FCS, test sampleを加え、microplateで22時間培養した。その後、 ^3H -thymidine $1\mu\text{Ci/well}$ を加え、2時間培養後、cell harvestを行い、液体シンチレーションカウンターで放射活性を計測した。検体のEPO活性は標準EPOを用いて作製した用量反応曲線より算出した。

3) Radioimmunoassay (RIA)法

RIA法は溝口らの方法¹⁴⁾に従った。家兔を免疫して得た抗EPO抗体とtest sampleを 37°C 2時間incubate後、 ^{125}I 標識Epoを加え、 4°C 24時間incubate、さらに抗ウサギIgGヒツジ血清を添加し、 4°C 2時間 incubate、その後、遠心し、沈層の放射活性を測定し、標準曲線より血中EPO濃度を算出した。

3. 血中EPO濃度基準値設定

上記の健常人122例、鉄血貧患者105例合計227例を対象とし基準値の設定を行った。すなわち血中EPO濃度 (mU/ml) は対数変換値

Yとして処理し、正常域、貧血域のそれぞれにおいてHb(X)に対するYの回帰直線を求め、回帰からの標準偏差2SDの範囲を基準域とした。Xに対する回帰線上の推定値を基準値とした。

統計学的分析にはAbelbeck Software社のKaleida Graph ver.2.1.2とAbacus Concepts社のStat View II ver.1.0.4を用いた。

また採血および血中EPOの測定に際しては、すべての患者および健常人の血液提供者から承諾を得た上で行った。

III. 結果

1. 各種EPO測定法--EIA法とAMSC法、 RIA法との比較検討

再生不良性貧血患者13例の同一検体を用いてEIA法とAMSC法により血中EPO濃度を測定した。両測定法間で $r=0.9708$ ($n=13$)、 $p<0.001$ と有意な相関関係を呈した(Fig. 2a)。同様にEIA法とRIA法においても $r=0.9624$ ($n=13$)、 $p<0.001$ と有意な相関関係を示した(Fig. 2b)。さらに健常人35例の同一検体を用いてEIA法とRIA法で測定すると、血中EPO濃度の低い健常人についても $r=0.7308$ ($n=35$)、 $p<0.01$ と有意な相関関係を示した(Fig. 2c)。

2. 健常人における生理的変動

1) 性別による血中EPO濃度変化

血中EPO濃度は、健常人： 8.9 ± 5.6 mU/ml ($n=122$)であった。そのうち男性群： 6.9 ± 4.9 mU/ml ($n=53$)、女性群： $10.6 \pm$

6.6 mU/ml ($n=69$)であり有意に ($p<0.01$) 女性群の方が高値を示した (Fig. 3a)。

2) 年齢による血中EPO濃度変化

血中EPO濃度を10歳から85歳まで10歳毎に8群に分け比較した (Fig. 3b)。男性において70才台が10才台、30才台よりも有意に ($p<0.05$) 低下していたが他の群間では差を認めなかった。

3) 正常域Hb濃度変動による血中EPO濃度変化

血中EPO濃度とHb濃度との関係では、Hb濃度が正常範囲内 (Hb:12.5 g/dl ~ 16.5 g/dl) においても弱い負の相関関係 ($r=-0.2323$ 、 $p<0.05$) を呈していた (Fig. 3c)。

4) 肥満度による血中EPO濃度変化

前述のように算出される肥満度により3群に分けて検討すると、血中EPO濃度は-20%以下: 3.9 ± 1.2 mU/ml ($n=2$)、-20% ~

+20% : $8.7 \pm 4.4 \text{ mU/ml}$ ($n=16$)、+20% 以上 : $7.6 \pm 4.6 \text{ mU/ml}$ ($n=12$) であり 3 群間を比較したが有意な差は認められなかった。

5) 喫煙による血中EPO濃度変化

喫煙の影響をみると、1日40本以上の喫煙者群 : $7.6 \pm 4.8 \text{ mU/ml}$ ($n=15$)、非喫煙者群 : $6.6 \pm 3.7 \text{ mU/ml}$ ($n=19$) と有意な差は認められなかった。

6) 血中EPO濃度の日内変動

健常人5例について24時間にわたり計10回経時的に採血し血中EPO濃度の変動を検討したが、一定の傾向は認められなかった

(Fig. 3d)。

3. 基準値の設定

正常対照群と貧血群(鉄欠貧)につき、Yの対X相関係数 r は $r=-0.8530$ 、 $p<0.001$ で有意であった。直線回帰式は $Y=3.260-0.1628X$ 、標準偏差SDは $SD=0.0914$ であり回帰直線から2SDの範囲を基準域とした(Fig. 4)。ま

た血中EPO濃度を絶対値で比較する場合は上述の如く男女に分けて検討した。

4. 貧血疾患での検討

1) 再生不良性貧血（再不貧）

再不貧の血中EPO濃度は対照に比して有意に高値を示し($p < 0.001$)、他の貧血疾患群に比べて最も高値であった。特に重症例では全例が $1,000 \text{ mU/ml}$ 前後と高く、軽症群との間に有意差を認めた(Fig. 5 a、 $p < 0.05$)。またHbとの関係では対照に比し明らかにEPO過剰側に偏位していた(Fig. 5 b、 $p < 0.001$)。

2) 骨髄異形成症候群（MDS）

MDSの28例全例では $504 \pm 862 \text{ mU/ml}$ と健康人より高値を示したが各疾患群別ではRA:
 $756 \pm 908 \text{ mU/ml}$ ($n=11$)、PASA: 3.2
 mU/ml ($n=1$)、RAEB: $151 \pm 145 \text{ mU/ml}$
($n=8$)、RAEB-T: 1405 ± 1439 ($n=3$)、
CMMoL: $137 \pm 196 \text{ mU/ml}$ ($n=5$)であり、
値が大きく分散しており各群間に有意な差を

認めなかった(Fig. 6a)。血中EPOとHb濃度とは有意に負の相関関係を示した。しかし貧血の程度に比してEPOの上昇程度は一定でなく、EPO過剰域15例、基準域内9例、EPO不足域の症例も4例認められた(Fig. 6b)。さらに血中EPO濃度は骨髓赤芽球比率が低率の症例で高値を示し、特にRAEB 8例においては、 $r = -0.882$ と良く相関した(Fig. 6c)。

3) 溶血性貧血(HA)、Anemia of chronic disorder (ACD)、慢性腎不全(CRF)

血中EPO濃度はHAで男性 248 ± 69.3 mU/ml ($n=3$)、女性 419 ± 72.1 mU/ml ($n=2$)といずれも有意に健常人レベル以上であった($p < 0.001$)。ACDでは男性 25.4 ± 14.4 mU/ml ($n=4$)、女性 26.7 ± 12.5 mU/ml ($n=6$)、CRFでは男性 32.3 ± 42.5 mU/ml ($n=11$)、女性 21.9 ± 14.6 mU/ml ($n=9$)でありいずれも健常人とは差がなかった(Fig. 7a)。Hbとの関係で評価するとHAでは

$Y = 3.0211 - 0.0691X$ 、($r = -0.5735$ 、 $p < 0.05$)と負の相関傾向がみられ基準域の上限に位置した。しかしACD、CRFではいずれも基準域より低くEPO不足側に偏位した(Fig.7 b)。

4) 甲状腺機能亢進症、低下症

甲状腺機能亢進症19例のうち8例(42%)に、低下症8例のうち4例(50%)に貧血を認めた。血中EPO濃度は甲状腺機能亢進症で男性 $143 \pm 172 \text{ mU/ml}$ 、女性 $151 \pm 253 \text{ mU/ml}$ 、低下症では男性 $9.3 \pm 1.8 \text{ mU/ml}$ 、女性 $17.3 \pm 8.8 \text{ mU/ml}$ であり、亢進症では低下症および健常人に比べ有意に($p < 0.001$)高値を示した(Fig.8 a)。Hb濃度との関係では亢進症では血中EPO濃度とHb濃度とは弱い相関を認め、EPO過剰側に偏位し、低下症では $Y = 2.560 - 0.0423X$ 、 $r = -0.963$ 、 $p < 0.05$ と有意な負の相関を認めさらに基準域より低くEPO不足側に偏位した(Fig.8 b)。また血中EPO濃度と

基礎代謝率(BMR)とは甲状腺機能亢進症、低下症を含め有意な負の相関関係を認めた($r = -0.866$ 、 $p < 0.05$ 、Fig. 8 c)。しかし血中EPO濃度とtriiodothyronine、thyroxine濃度とは相関しなかった。治療後の変化では甲状腺機能亢進症11例すべて血中EPO濃度は低下したが、4例は健常人より高値を持続した。甲状腺機能低下症では全例正常化した(Fig. 8 d)。

5) 骨髄移植 (BMT) および化学療法施行例

BMTを施行した5症例において経時的にHb濃度より予測されるEPO濃度と実測した血中EPO濃度とを比較したところ、血中EPO濃度はday-2より予測値より有意に上昇し平均72.7 mU/ml、Hbの低下に伴い2番目のピークが出現し、day26で平均95.5 mU/mlであった。特にday0, 3, 5, 7, 18, 20では有意な変化であった($p < 0.01$)。Day30以降は予測値とほぼ同様の変化を示した(Fig. 9 a)。Hb濃度と血中

EPO濃度の関係を見ると基準域と比較して day15以前では貧血は軽度でもEPO過剰側へ、 day16から day30では逆にEPO不足側へ偏位していた (Fig.9 b)。Day15以前に出現する血中EPO濃度の初期の上昇について検討するとBMT症例では通常の化学療法の症例よりも低値を示した。しかし生着不全の症例では著しい高値を呈した (Fig.10 a)。また顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) を投与した群で有意に ($p < 0.01$) 高い血中EPO濃度を示した (Fig.10 b)。

5. 多血疾患での検討

1) 真性多血症 (PV)、二次性、相対的多血症
PVでは男性 $7.3 \pm 5.0 \text{ mU/ml}$ ($n=14$) 女性 $5.9 \pm 3.4 \text{ mU/ml}$ ($n=3$) であり健常人と有意差はなかったが、未治療14例中7例 (50%) で正常以下を示した。二次性多血症では男性 $47.1 \pm 4.9 \text{ mU/ml}$ ($n=4$)、女性 28 mU/ml ($n=1$) で男性で有意に ($p < 0.001$) 正常域より

高値を示した。相対的多血症では男性 $17.5 \pm 4.9 \text{ mU/ml}$ ($n=3$) 女性 32.1 mU/ml ($n=1$)と正常域と有意差は認められなかった。さらにPVと二次性多血症とは $p < 0.001$ で有意にPVが低かった(Fig.11)。HbとEPOとは有意な相関関係は認められなかった。

2) 偽性副甲状腺機能低下症(PHP)

Hb濃度はPHP $16.3 \pm 0.9 \text{ g/dl}$ であり男性3例(60%)、女性1例(100%)が健常人より高値を示した。これは特発性副甲状腺機能低下症の $13.3 \pm 1.3 \text{ g/dl}$ に比し有意に($p < 0.001$)高値であった(Fig.12 a)。血中EPO濃度はPHP $50.5 \pm 40.4 \text{ mU/ml}$ ($n=6$)、IHP $45.4 \pm 36.0 \text{ mU/ml}$ ($n=16$)であり両者および健常人とも差を認めなかった(Fig.12 b)。また二次性副甲状腺機能低下(SHP)5例、原発性副甲状腺機能亢進症(HPT)5例とも差を認めなかった。Hb濃度との関係ではPHP、IHP各群で有意な負の相関関係を示し(それぞれ

$Y = 6.299 - 0.290X$ 、 $r = -0.7251$ 、 $p < 0.001$:

$Y = 4.641 - 0.239X$ 、 $r = -0.8216$ 、

$p < 0.001$) その相関曲線はPHPではIHP、基準域と有意に異なりEPO過剰側に偏位していた(Fig.12)。また血中EPO濃度と血中副甲状腺ホルモン(PTH)濃度との間には相関関係は認められなかった。PHP2例において循環血漿量の低下を認めたが、脱水ピトレッシン負荷による尿濃縮力は正常であった。

IV. 考察

1. 各種EPO測定法--EIA法とAMSC法、 RIA法との比較検討

本EIA法¹⁶⁾は、抗EPOモノクローナル抗体R6とアルカリフォスファターゼでラベルした抗EPOモノクローナル抗体R2によるサンドイッチ法である。測定下限は3mU/mlで再現性もよく、今回の検討でも生物学的活性をみるAMSC法¹²⁾と、従来、精度が高いとされてきたRIA法¹⁴⁾とも強い相関関係を示した(Fig.2)。

また測定手技は、AMSC法に比し無菌的操作を必要としない点で、またRIA法のように放射性同位元素の取扱いを必要としない点で非常に簡便な方法である¹⁸⁾。このようにEIA法は優れた血中EPO濃度測定法と考えられた。

2. 正常人における生理的変動--性差、Hb濃度による差、体重による差、喫煙による差、日内変動

本EIA法を用い健常人122例における血中EPO濃度の生理的動態につき検討した。まず性差については、明らかに女性群で高い値を示した(Fig.3a)。Hb濃度は女性が男性より低い傾向を示し、そのため代償的にEPOが上昇し赤血球造血を促進していると推察された。健常人でもHb濃度の性差が存在するため、種々病態の血中EPO濃度の評価においても性差を考慮すべきと考えられた。次に年齢差については生後3カ月から16歳までの130例においてEPOの変化は認められなかったとの報告²³⁾はあるが、成人についての年齢差の報告は今までない。今回の10歳から80歳までの検討では高齢者において血中EPO濃度が低い傾向を示し(Fig.3b)、加齢によりEPO産生能が低下している可能性が考えられた。また血中EPO濃度とHb濃度とは弱い負の相関関係を示しHb濃度に反応しEPOの産生が制御されていること⁶⁾の一端を示していると考えられた。

肥満例やヘビースモーカーでは動脈血酸素飽和度が低い例が多いものの、著者の検討では正常Hb濃度ではいずれも血中EPO濃度に有意な変化は認められなかった。健常人における血中EPO濃度の日内変動では、これまでbioassayで夜間において血中EPO濃度が上昇していたとする報告²⁴⁾はあるが、今回の検討では特徴的な変化は認められなかった(Fig. 3d)。EPOの血中半減期が3～8時間²⁵⁾であり日内変動の生理的意義は少ないと思われた。以上より健常人における検討で女性群が明らかに男性群より高値を呈したこと、高齢者で低値を呈したこと²⁶⁾は、血中EPO濃度を絶対値で、特に低いレベルで評価する上で重要である。

3. 基準値の設定とその意義

さて、この血中EPO濃度は末梢血Hb濃度に鋭敏に反応し、赤血球産生調節機構の重要な一側面を呈示するとされる⁶⁾。そこで血中

EPO濃度を測定し貧血、多血をもたらす種々疾患の病態をこの調節機構とその破綻の両側面から把握するためには、基準の設定が必要となる。基準値の設定のため対照として造血調節機構と赤芽球系幹細胞の分化増殖に本質的な破綻はないとされる鉄欠貧⁹⁾と健常人とを選定した。一次回帰式は鉄欠貧で

$$Y = 2.999 - 0.129X、健常人で Y = 2.135 -$$

$0.085X$ であり両群に差はなく貧血域、正常域を一括可能と考え合わせて基準域とした

(Fig. 4)。回帰は同一方法で対Hbが対Htより良好であり酸素運搬体がHbであることの直接的な反映と理解された。

以上のように血中EPO濃度を、設定した基準値と比較すると、後述のごとく単に正常値との比較とは別の観点に立った新しい病態把握が可能であった。

4. 貧血疾患での検討

1) 再生不良性貧血 (再不貧)

再不貧で血中EPO濃度が異常高値を示すことは従来より報告されているが⁶⁾⁷⁾⁹⁾、その程度についてはErslevらの"simple anemia"の分布域と大差がないとされている⁹⁾。しかし今回の検討では貧血疾患の中で最も著しくEPO過剰側に偏位し、再不貧の成因としてのEPOの欠如は考えにくく、特に興味深いことに貧血のみられない7例中5例においてEPO過剰が認められたことは、他因子による潜在的な赤芽球系造血能の抑制を代償している可能性を示唆しており、今後の検討課題としたい。

2) 骨髓異形成症候群 (MDS)

MDSは多彩な造血病態を呈する疾患群である²⁷⁾。血中EPO濃度は24例(86%)で健常人に比べ著しい高値を呈したが、基準域と比較するとEPO過剰側16例(57%)、基準域内8例(29%)、不足側4例(14%)と各域に分散し、単に正常域と比較する場合²⁸⁾²⁹⁾より多彩性をよく反映する結果となった。また血中

EPO濃度と骨髓赤芽球比率とはRAEBにおいて負の相関関係を呈し、骨髓での赤芽球系造血とEPOとの間のフィードバック機構や無効造血、溶血等を考慮した詳細な評価が必要と思われた。

3) 溶血性貧血(HA)

溶血性貧血(HA)における血中EPO濃度は絶対値で正常より有意に高値を示したが、Hb濃度との関係では基準域上限にあり(Fig.7)、本質的に赤血球産生調節機構に破綻はないと考えられた。

4) 慢性腎不全(CRF)

腎性貧血ではEPO欠乏が貧血の主たる原因³⁰⁾とされているが単純な正常値との比較ではむしろ高値を呈する例が3例(30%)存在し、正常以下の例は1例も存在しなかった(Fig.7)。しかし基準域と比較すると16例(80%)が有意にEPO不足側に偏位し、本疾患の貧血の重要な病因をより直接的に示すデータ処理法と

考えられた。また赤血球輸血を施行していた例では、検体採取時のHb濃度を基準にして血中EPO濃度を評価したためその時点でのEPO制御回路を十分に反映していると考えられた。

5) Anemia of chronic disorder (ACD)

ACDの原因として鉄代謝障害、赤血球寿命の短縮等報告されているが³¹⁾³²⁾、ACD10例中9例(90%)はEPO不足域に存在し基準値と比較することによってEPOの不足を明示する結果となった(Fig.7)。その程度は腎性貧血より軽度でEPO低下が貧血に関与する割合も腎性貧血よりは軽度と考えられるが、ACDの治療として腎性貧血同様リコンビナントEPOの投与も有効であると推察された。

6) 甲状腺機能亢進症、低下症

従来³³⁾の報告のように甲状腺機能亢進症では低下症、健常人より有意に高値を呈した。さらに著者は亢進症、低下症いずれにおいても血中EPO濃度とHb濃度との間に負の相関関

係を認めたが、その勾配係数は亢進症、低下症で明らかに異なっており (Fig. 8a b)、甲状腺ホルモンの直接的なEPO産生刺激作用³⁴⁾や、基礎代謝率と血中EPO濃度が相関することより (Fig. 8c) 末梢組織での酸素消費を介しての間接的なEPO産生刺激作用³⁵⁾によるものと考えられた。

甲状腺機能の改善に伴い低下症全例でHb濃度の上昇、6例(85.7%)で血中EPO濃度の低下をみた。亢進症では全例で血中EPO濃度の低下を認めたが、貧血の改善しなかった2例では血中EPO濃度は高値のままで血清鉄の不足が改善していないために貧血が遷延しているものと思われた (Fig. 8d)。

7) 骨髄移植 (BMT) および化学療法施行例

骨髄移植 (BMT) 後の血中EPO濃度の変化を経時的にみると、day15以前は絶対値で血中EPO濃度のピークが存在しHb濃度との関係ではEPO過剰側へ偏位、day16~30はEPO不

足側へ偏位、day31以降は基準域内の変動と3期に分けられた (Fig.9)。day15までは前処置に伴う骨髓低形成と移植骨髓生着までの時期であり、day16~30は移植骨髓の生着によりEPO消費亢進の時期、day30以降は正常の造血状態に回復する時期として理解された³⁶⁾。Day16~30ではEPO不足にあり、リコンビナントEPOの投与が有効な時期と考えられた。またこの時期、赤血球輸血を施行していたが、検体採取時のHb濃度をもとに血中EPO濃度を評価したためその時点でのEPO制御回路を反映していると考えられた。さらに初期の血中EPO濃度の上昇を検討すると、以前の報告³⁷⁾の如く生着不全の例で移植初期より高値を呈し、生着に関する早期マーカーとなり得ることも示された。また通常の化学療法よりBMTにおいて低値を示したのはサイクロスポリンAによりEPO産生が抑制³⁸⁾³⁹⁾されたことも一因と考えられた。またG-CSF投与例で有意に

EPOのピークが高かったこと (Fig. 10) は、G-CSFが骨髄間質細胞を刺激するという報告⁴⁰⁾、EPOが骨髄間質細胞より産生されるという報告⁴¹⁾もあり興味深い。G-CSFがEPOの産生を間接的に刺激している可能性もあり今後検討すべき課題と思われた。

5. 多血疾患での検討

1) 真性多血症 (PV)、二次性、相対的多血症
多血疾患での検討では、RIA、EIA法による低濃度域での定量により血中EPO濃度の評価が可能になった^{42)・44)}。しかし、現在でも真性多血症 (PV) の診断は polycythemia vera study group (1968年) の診断基準²²⁾に基づいておりPVと二次性多血症との鑑別にその繁雑さを余儀なくされている。本EIA法では血中EPO濃度はPV全例において二次性多血症より明らかに低下しており (Fig. 11)、最近の報告の如く⁴⁵⁾直接的な鑑別の重要な一項目となり得ると考えられた。相対的多血症は正

常範囲内で差を認めなかった。また基準域をPV例に適用すると殆どの例が基準域に入り差はみられなかった。この所見は、PVにおいても血中EPO濃度は生理的な律則に準じて変化することを示唆、すなわちEPO低濃度下でも増殖可能なクローンの存在⁴⁶⁾⁴⁷⁾により多血域へ変化し血中EPO濃度の低下を見たとして説明できる。相対的多血症、二次性多血症では基準域よりEPO過剰側に偏位した例が見られたが一定の傾向はなく、むしろ性差を考慮した上でのEPO絶対値での評価が有用と思われた。

2) 偽性副甲状腺機能低下症(PHP)

偽性副甲状腺機能低下症(PHP)は副甲状腺ホルモン(PTH)に不応性な疾患として特徴付けられ⁴⁸⁾、Hb濃度増加を伴う例が多いがそのメカニズムは不明である。著者はPHP 6例中4例(67%)にHb濃度上昇を認め、6例中3例(50%)で血中EPO濃度の上昇をみた(Fig.12)。

二次性多血をきたす原因は認められなかった。また血中副甲状腺ホルモン(PTH)濃度と血中EPO濃度との相関関係はみられなかった。血中EPO濃度とHb濃度とは負の相関関係をなしたが対照であるIHPおよび基準域と異なりEPO過剰側に偏位していた(Fig.13)。すなわちPHPではEPO産生分泌はPHP固有の律則下に支配され、EPO産生亢進に傾いていたことを示唆する。PHPは近位尿細管の障害と考えられているが⁴⁹⁾⁵⁰⁾EPO産生部位も近位尿細管上皮あるいはその近傍の間質細胞^{51)・53)}と近似しており、PHPにおいてはEPO産生を刺激するまでの酸素センサー、シグナル伝達系の異常をも包含しEPO産生過剰に偏位している可能性が推察され興味深い。また循環血漿量の低下していた2例でバゾプレッシンに対する不応性⁵⁴⁾を疑ったが尿濃縮力は正常でありその原因は不明であった。

V. 結語

最近開発されたEIA法を使用し、その有用性と、Hb濃度に依存したEPO基準値を設定して血中EPO濃度測定の臨床的意義につき検討した。結論として次の4項に要約できる。

1. 血中EPO濃度測定においてEIA法はAMSC法、RIA法に比べ簡便で高感度な測定法であった。

2. 血中EPO濃度は健常人では女性で高く、高齢者で低い値を示した。

3. 鉄欠乏性貧血、健常人を対照群としてHb濃度に対応するEPO基準値を設定すると、血中EPO濃度の絶対値が上昇している貧血群をさらに次の3群に分類できた。

1) 再不貧、MDS、甲状腺機能亢進症、BMT後day-2～15のようにEPO過剰側へ偏位している疾患群。

2) MDS、溶血性貧血、BMT後day31以降のようにEPO基準域内の疾患群。

3)MDS、腎性貧血、Anemia of chronic disorder、甲状腺機能低下症、BMT後day16～30のようにEPO不足側へ偏位している疾患群。

特に3)群のようにEPO不足側へ偏位している疾患群では治療上リコンビナントEPOの効果が期待できると考えられた。

4. 多血疾患では血中EPO濃度により真性多血症と二次性多血症とが鑑別可能であった。また偽性副甲状腺機能低下症ではEPO過剰が多血に寄与している可能性が示唆され、EPO産生の調節機構がシフトしている疾患として今後の研究対象となり得ると考えられた。

以上より血中EPO濃度をそのHb濃度に対応する基準EPO値から評価することにより、多角的視点で各種貧血、多血病態を把握することが可能であり、かつ治療に反映できると考えられた。

VI 図表

Table 1 再生不良性貧血症例。

Table 2 骨髓異形成症候群症例。

Table 3 溶血性貧血症例、anemia of chronic disorder の症例、腎性貧血症例。

Table 4 甲状腺機能亢進症症例。

Table 5 甲状腺機能低下症症例。

Table 6 骨髓移植施行症例。

Table 7 真性多血症症例、二次性多血症症例、相対的多血症症例。

Table 8 偽性副甲状腺機能低下症症例。

Fig.1 Enzymeimmunoassay法。

EIA法は抗ヒトEPOモノクロ-ナル抗体R6とアルカリフォスファターゼでラベルした抗EPOモノクロ-ナル抗体R2によるサンドイッチ法である。測定限界は2mU/mlであった。

Fig.2 各種EPO測定法--EIA法とAMSC法、RIA法との比較検討。

図a,bの如く血中EPO濃度は、再生不良性貧血患者13例においてEIA法とAMSC法、またEIA法とRIA法とでよく相関した。また図cの如くEIA法とRIA法とは正常人の低いレベルでもよく相関した。

Fig.3 健常人における生理的変動。

血中EPO濃度は正常人122人において図aの如く女性で平均10.6mU/mlと有意に高値を示した。また図bの如く70才台で30才以下と比べ有意に低値を示した。図cのように血中EPO濃度とHb濃度とは負の相関関係を呈し、図dのように日内変動は認められなかった。

Fig.4 EPO基準値の設定。

鉄欠乏性貧血105人、正常人122人、計232人において、血中EPO濃度とHb濃度とは負の相関関係を呈し($Y=3.260-0.1628X$, $r=-0.8530$, $p<0.001$)、相関曲線から $\pm 2SD$ の範囲を基準域とした。

Fig.5 再生不良性貧血症例における血中EPO濃度。

図aのように血中EPO濃度は他の貧血疾患群に比して最も高値を示した。特に重症例では軽症群との間に有意差を認めた。また図bのようにHb濃度との関係において基準域に比し明らかにEPO過剰側に偏位していた。

Fig.6 骨髓異形成症候群症例における血中EPO濃度。

全体では平均504mU/mlと正常人より高値を示し、図aの如く各疾患群間に差は見られなかった。図bのように血中EPO濃度とHb濃度とは有意に負の相関関係を示したが、貧血の程度にくらべて血中EPO濃度の上昇程度は様々であった。さらに図cの如く血中EPO濃度は骨髓赤芽球比率の低い症例で高値を示した。

Fig.7 溶血性貧血、Anemia of chronic disorder (ACD)、慢性腎不全(CRF)に伴う貧血症例における血中EPO濃度。

血中EPO濃度は溶血性貧血で有意に高値を示した。またACD、CRFにおいても正常人上限値を示しながらHb濃度との関係では図bの如くいずれも基準域より明らかに低くEPO不足側に偏位した。

Fig.8 甲状腺機能亢進症、低下症症例における血中EPO濃度。

図aのように血中EPO濃度は、甲状腺機能亢進症で、低下症および正常人に比し有意に高値を示した。また図bの如くHb濃度との関係では亢進症では基準域より高くEPO過剰側に、低下症ではEPO不足側に偏位した。また図cの如く血中EPO濃度と基礎代謝率(BMR)とは甲状腺機能亢進症、低下症含め有意な相関関係を認めた。治療後の変化を見ると図dの如く亢進症11人すべてEPOレベルは低下、甲状腺機能低下症では全例正常化した。

Fig.9 骨髓移植療法施行症例における血中EPO濃度。

図aの如く血中EPO濃度はday-2より有意に上昇し平均72.7mU/ml、Hbの低下に伴い2番目のピークが出現しday26で平均95.5mU/mlであった。Day30以降はほぼ予測値と同様の変化を示した。図bの如くHb濃度と血中EPO濃度の関係をみるとday15以前では貧血は軽度でもEPO過剰側へ、day16からday30では逆にEPO不足側へ偏位した。

Fig.10 移植初期の血中EPO濃度のピーク値。

Day15以前に出現する血中EPO濃度の初期の上

昇について検討すると図aの如くBMT症例では通常の化学療法の症例よりも低値であったが生着不全の症例では著しい高値を呈した。また図bの如く顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)を投与した群で有意に高い値を示した。

Fig.11 真性多血症(PV)、二次性、相対的多血症症例における血中EPO濃度。

真性多血症16人では平均7.2mU/mlであり未治療13例中7例(54%)で正常以下であった。二次性多血症5人では有意に高値を、相対的多血症4人では正常域にほぼ一致した。

Fig.12 偽性副甲状腺機能低下症(PHP)症例における血中EPO濃度。

図aの如くPHPにおいてHb濃度は高値を示したが、図bの如く血中EPO濃度では特発性副甲状腺機能低下症(IHP)と差は認められなかった。図cの如くHb濃度との関係ではPHP、IHP各群で有意な負の相関関係を示し、その相関曲線はPHPでは、IHP、基準域と異なり有意にEPO過剰側に偏位していた。

Table 1. Patients with aplastic anemia

Case	Severity	WBC (/cmm)	neutrophil (%)	monocyte (%)	RBC (10 ⁶ /cmm)	reticulocyte (%)	Hb (g/dl)	Platelet (10 ⁴ /cmm)	CRP (ng/ml)
1 T.K. 76F	S	1500	65	10	150	0.1	5.4	3.6	1.0
2 H.S. 27M	S	2500	34	20	230	0.5	8.7	0.9	0.0
3 K.S. 18M	S	4400	60	18	299	1.5	10.8	2.0	0.0
4 M.A. 39F	S	2600	28	9	161	0.1	6.2	0.7	0.3
5 T.T. 64M	S	2300	51	7	197	0.1	6.9	1.0	0.1
6 T.S. 60F	S	2400	41	10	279	0.4	8.8	1.0	0.0
7 Y.N. 34F	I	6500	27	6	256	0.8	7.7	4.4	0.0
8 C.Y. 53F	I	5700	30	10	288	1.0	10.1	1.4	0.0
9 T.K. 72F	I	2500	28	16	260	0.8	7.8	1.2	1.0
10 F.M. 36F	I	2500	39	10	229	0.2	8.7	3.6	0.0
11 S.Y. 70M	I	2500	28	11	505	2.2	14.5	2.1	0.6
12 K.W. 48F	I	2500	38	6	370	1.5	14	2.0	0.0
13 K.H. 23M	I	6200	24	5	263	0.5	10	4.1	0.0
14 K.S. 23M	I	3100	15	10	210	0.2	6.3	0.5	0.0
15 C.O. 53F	I	2000	32	9	325	2.0	11.5	2.5	0.0
16 H.H. 70M	I	3100	56	15	270	0.2	8.8	2.9	0.0
17 K.M. 66M	M	3000	53	5	345	2.2	12	2.6	0.0
18 K.N. 58M	M	3900	54	16	300	2.1	9.5	5.6	0.6
19 I.C. 39F	M	3300	62	15	317	2.4	10.7	8.1	0.0
20 M.T. 65M	M	8200	45	6	484	2.1	16.4	15.4	0.0
21 T.D. 60M	M	8600	21	6	501	2.3	14.3	17.0	0.0
22 R.S. 20F	M	4000	28	10	220	0.3	8.5	5.6	0.7
23 S.A. 58F	M	4800	42	5	313	1.1	11.3	8.7	0.0
24 Y.A. 67F	M	2800	32	5	272	0.7	10.2	8.9	0.0
25 M.S. 51F	M	2510	40	6	376	1.5	13	16.5	0.0
26 S.H. 58M	M	3770	47	10	482	1.5	16.5	9.3	0.0
27 Y.S. 26F	M	2240	70	8	314	1.0	13.2	5.0	0.0

S: severe 6cases

I: intermediate 10cases

M: mild 11cases

Table 2. Patients with Myelodysplastic syndrome

CASE	AGE	SEX	DIAG	Peripheral blood:			Bone marrow:			
				WBC (/cmm)	RBC (10 ⁴ /cmm)	Hb (g/dl)	Platelet (10 ⁴ /cmm)	NCC (10 ⁴ /cmm)	Blast (%)	Erythroblast (%)
1	65	M	RA	6000	183	5.9	16.1	12.50	4.8	4.8
2	72	M	RA	1500	187	6.4	2.5	3.35	16.4	17.2
3	61	M	RA	2500	324	10.3	2.5	2.60	0.2	37.0
4	25	M	RA	4200	228	7.8	6.3	20.30	0.4	36.4
5	65	M	RA	9500	199	6.0	15.8	36.50	2.0	6.2
6	62	M	RA	1400	243	7.7	1.1	16.90	1.2	67.4
7	39	M	RA	3200	298	10.5	11.6	hyper	0.6	53.6
8	52	F	RA	5000	263	10.4	6.8	17.45	1.0	44.8
9	78	F	RA	4400	334	5.3	33.6	8.60	3.0	24.4
10	39	F	RA	2500	251	8.3	5.3	15.40	1.6	21.6
11	35	F	RA	3300	348	9.6	8.9	11.00	3.2	45.2
12	78	M	PASA	9000	353	12.4	4.2	3.10	2.0	38.4
13	42	M	RAEB	6900	292	9.6	24.2	2.40	11.2	40.0
14	68	M	RAEB	2600	282	13.4	2.6	19.75	7.8	51.4
15	78	M	RAEB	1500	178	5.3	35.4	16.10	5.6	1.8
16	79	M	RAEB	3000	210	6.5	4.3	13.60	8.0	1.6
17	81	M	RAEB	1900	194	6.7	1.6	51.50	5.6	28.0
18	52	M	RAEB	4000	262	8.5	33.2	14.30	6.6	28.2
19	69	M	RAEB	6900	398	11.9	9.7	22.50	8.4	36.2
20	72	M	RAEB-T	6900	234	607.0	3.4	86.00	26.4	55.0
21	75	M	RAEB-T	14900	261	7.8	4.3	75.00	22.6	1.0
22	62	F	RAEB-T	3400	174	6.7	6.7	24.40	26.0	16.2
23	48	M	CMMoL	6000	422	11.0	3.1	10.20	2.4	28.0
24	56	M	CMMoL	15000	273	8.0	1.3	8.90	15.2	14.0
25	52	M	CMMoL	52800	257	7.9	3.0	59.80	4.2	18.8
26	46	F	CMMoL	31600	232	8.4	13.3	74.60	25.6	9.2
27	38	F	CMMoL	20900	198	7.6	5.5	23.30	8.2	12.8

RA: refractory anemia, PASA: primary acquired sideroblastic anemia,

RAEB: RA with excess of blast, RAEB-T: RAEB in transformation,

CMMoL: chronic myelomonocytic leukemia, NCC: nuclear cell counts

Table 3. Patients with ACD and AIHA

CASE	AGE	SEX	DIAGNOSIS	WBC (/cmm)	RBC (10 ⁴ /cmm)	Hb (g/dl)	Platelet (10 ⁴ /cmm)	Fe (mmg/dl)	TIBC (mmg/dl)	sFerritin (ng/ml)	CRP (ng/ml)	Therapy
1	56	M	RA	3800	320	8.0	22.4	56	226	178	2.1	NSAID
2	72	M	RA	5200	302	7.6	18.2	83	157	126	0.2	NSAID
3	84	M	UTI	11000	288	7.2	38.0	108	150	55	3.2	—
4	66	M	Pneumonia	9000	461	12.0	26.2	88	182	163	6.2	—
5	78	F	RA	8100	408	10.2	17.6	28	156	102	2.2	NSAID
6	67	F	RA	4200	356	9.6	18.0	110	218	81	1.2	gold
7	76	F	RA	11200	352	8.1	35.2	72	111	272	8.2	—
8	82	F	RA	4700	363	8.7	21.0	5	170	7.8	0.2	—
9	68	F	RA	3000	322	6.3	26.6	37	89	210	3.2	—
10	69	F	RA	4500	263	7.1	22.4	34	160	166	2.8	steroid
1	60	M	AIHA	4600	172	6.0	21.4					—
2	57	M	AIHA	6100	264	8.2	18.6					—
3	52	M	Evans	9200	301	7.6	10.2					steroid
4	38	F	AIHA	5000	267	8.0	13.6					—
5	41	F	AIHA	3800	256	7.5	15.2					steroid

RA: rheumatoid arthritis, UTI: urinary tract infection, ACD: anemia with chronic disorder

AIHA: auto immune hemolytic anemia, Evans: Evans syndrome, NSAID: non steroidal anti inflammatory drug

Table 4. Patients with hyperthyroidism

CASE	AGE	SEX	T4 (mmg/dl)	T3 (ng/dl)	TSH (mIU/ml)	BMR (%)	RBC (10 ⁴ /cmm)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	Therapy
1	46	M	25.0	271	0	18	454	13.5	40.7	89.5	
2	44	M	25.1	800	0	70	562	15.1	45.3	80.6	
3	52	M	6.2	558	0	63	394	10.8	31.7	80.5	
4	38	F	15.7	367	0	11	418	11.5	34.4	82.3	
5	40	F	19.3	325	0	48	484	13.8	40.8	84.3	
6	44	F	34.7	707	0	47	512	12.5	38.4	75.0	
7	58	F	15.4	301	0	40	418	13.3	39.2	93.8	
8	60	F	24.0	404	0	43	423	12.6	37.5	88.8	
9	58	M	30.0	572	0	82	502	14.5	43.1	85.9	
10	34	M	9.4	121	0		514	15.4	46.0	89.5	MMI
11	24	M	16.8	336	0	32	510	14.1	41.8	82.0	
12	39	M	9.7	189	0		513	15.5	45.2	88.1	MMI
13	39	M	26.0	457	0	26.5	555	16.2	48.3	87.0	
14	50	F	7.0	114	0		494	16.3	47.3	95.7	MMI...Operation
15	27	F	26.1	800	0	58	540	15.6	46.3	85.7	
16	57	F	3.4	72	0.66		527	15.3	45.4	86.2	MMI...isotope
17	41	F	20.1	391	1.22	35	397	11.0	32.7	82.4	
18	31	F	3.9	107			389	10.8	33.2	85.3	MMI
19	51	F	15.5	237			431	13.0	38.2	88.6	
20	27	F	7.4	146	0.27	58	447	13.7	40.5	90.6	MMI...isotope
21	57	F	23.1	331			464	12.8	38.7	83.4	
22	41	F	10.1	151	0	59	469	13.1	39.1	83.3	PTU
23	57	F	22.6	347	0		431	12.6	38.8	75.8	
24	41	F	1.0	49	0	93.5	459	13.6	41.5	90.3	MMI
25	31	F	21.9	620	0		512	12.6	38.8	75.8	
26	51	F	6.9	117			426	11.3	35.0	82.2	MMI
27	31	F	41.0	800	0	63	507	13.9	42.1	82.9	
28	51	F	2.7	117	0		450	13.9	41.3	91.7	MMI
29	51	F	20.1	800	0.16		391	12.5	36.5	93.4	
30	51	F	7.5	149	0.61		383	12.4	36.2	94.5	MMI...PTU

MMI: thiamazole

PTU: propylthiouracil

Table 5. Patients with hypothyroidism

CASE	AGE	SEX	T4 (mmg/dl)	T3 (ng/dl)	TSH (mmU/ml)	BMR (%)	RBC (10 ⁴ /cmm)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	Therapy
1	27	M	1.0	19	50		433	14.1	40.9	94.5	
			10.1	125	17.4		507	16.0	47.1	92.7	Thyradin
2	28	M	0.6	32	50	-16	450	14.0	42.3	94.0	
			11.2	120	15		588	18.0	53.7	91.2	Thyradin
3	81	M	0.5	24	50	-11	445	13.8	41.8	93.9	
			9.4	128	7.7		455	14.2	42.5	93.5	Thyradin
4	56	F	2.1	63	50	-2.5	385	12.4	36.8	95.5	
			11.0	125	2.3		443	13.7	40.9	92.1	Thyradin
5	26	F	0.9	29	50		272	8.7	25.5	93.8	
			10.9	122	14		415	12.2	37.5	90.4	Thyradin
6	22	F	2.7	79	50		420	13.0	38.4	91.4	
			12.6	130	2.3		426	12.6	38.3	89.9	Thyradin
7	73	F	1.1	31	50	-24	335	11.0	32.6	97.3	
			8.0	111	13.3		321	10.4	31.0	96.6	Thyradin
8	69	F	1.7	50	50		355	11.7	34.3	96.6	

BMR: basal metabolic rate

Table 6. Patients treated by BMT and chemotherapy

Age/Sex	Disease	Stage	Type of BMT	Conditioning regimen	Prophylaxis of GVHD	Chemotherapy	G-CSF(mmg/kg)
1 T.K.	CML	CP	Allo	AraC+Cy+TBI	ShortMTX +CYA	—	10
2 K.H.	AML(M1)	2nd CR	Syngenic	Bu+Cy	—	—	10
3 H.C.	IBLlike Tcell Lymphoma	PR	Allo	VP16+Bu+Cy	ShortMTX+ CYA	—	5
4 Y.S.	CML	CP	Allo	Bu+Cy	ShortMTX +CYA	—	—
5 E.K.	CML	CP	Allo	Bu+Cy	ShortMTX +CYA	—	—
6 Y.S.	ML	PR	—	—	—	MEPP	5
7 Y.S.	ML	PR	—	—	—	HDARaC	4
8 I.K.	AML(M3)	CR	—	—	—	BHAC VVP	—
9 Y.S.	AML(M2)	CR	—	—	—	BHAC DMP	—
10 M.S.	AML(M3)	CR	—	—	—	BHAC VV	—
11 M.M.	AML(M2)	CR	—	—	—	BHAC VVP	—

AML: Acute myelogenous leukemia, CML: Chronic myelogenous leukemia, ML: Malignant lymphoma, CP: Chronic phase

CR: Complete remission, PR: Partial remission, AraC: Cytarabine, Cy: Cyclophosphamide, Bu: Busulfan, VP-16: Etoposide, TBI: total body irradiation,

MTX: Methotrexate, CYA: Cyclosporin A, MEPP: Mitoxantrone(MIT) 8mg/m² day1, VP-16 140mg/m² day1, 3,5, Cisplatin 20mg/m² day1, 2,3,4,5, Prednisolone(PSL) 40mg/m² day1, 2,3,4,5, HDARaC: AraC 3000mg/m² every 12 hours day1, 2,3, MIT 10mg/m² day2,3, BHAC-VVP: BHAC 200mg/m² day1, 2,3,4,5,6,7, VP-16 100mg/m² day1, 2,3,4,5, Vindesine(VDS) 2mg/m² day1, 10, PSL 40mg/m² day1, 2,3,4, BHAC-DMP: BHAC 200mg/m² day1, 2,3,4,5,6,7, daunomycin(DNR) 40mg/m² day1, 2,3, 6MP 70mg/m² day1, 2,3,4,5,6,7, PSL 40mg/m² day1, 2,3,4

Table 7. Patients with polycythemia

CASE	AGE	SEX	DIAGNOSIS	WBC (/cmm)	RBC (10^4 /cmm)	Hb (g/dl)	Platelet (10^3 /cmm)	Red cell volume (ml/Kg)	Saturation of O ₂ (%)	Splenomegaly	Therapy
1	58	M	PV	6800	467	17.0	18.5	38.1	93.4	+	-
2	68	M	PV	13000	628	18.8	40.2	43.0	92.0	+	-
3	48	M	PV	12600	728	18.6	26.5	42.2	92.6	+	-
4	55	M	PV	9100	711	18.2	31.3	41.0		+	phlebotomy
5	39	M	PV	9000	600	17.8	28.6			+	phlebotomy
6	43	M	PV	5600	612	17.4	23.5	36.4	96.2	+	-
7	55	M	PV	10500	680	18.2	28.1	41.8	93.0	+	-
8	68	M	PV	12500	681	18.3	39.0	39.2	92.8	+	-
9	66	M	PV	8900	516	17.8	30.4		93.2	+	phlebotomy
10	32	M	PV	15000	602	17.6	32.6	42.1	93.1	-	-
11	70	M	PV	9000	632	17.6	56.0	37.8	94.5	+	-
12	49	M	PV	10000	590	19.9	23.2	43.3		+	-
13	78	M	PV	5700	579	19.6	21.1		96.8	+	-
14	69	F	PV	11300	682	16.5	57.7	33.6	98.6	+	-
15	78	F	PV	15600	679	16.0	39.7	39.1	93.0	-	-
16	69	F	PV	12900	657	17.0	53.6	39.9	92.6	-	-
17	65	M	secondary	8200	421	18.2	19.3	40.2	93.2	-	-
18	58	M	secondary	4100	579	19.6	19.4	37.8	89.0	-	-
19	50	M	secondary	5200	662	18.2	18.8	36.0	93.1	-	-
20	56	M	secondary	12000	620	18.2	38.0	36.6	88.8	-	-
21	84	F	secondary	5600	632	16.4	22.2	37.2	89.0	-	-
22	38	M	relative	5300	542	17.5	19.3	34.0	96.2	-	-
23	38	M	relative	4800	576	17.6	28.6	35.6	93.2	-	-
24	46	M	relative	6200	560	17.5	15.6	34.6	94.8	-	-
25	46	F	relative	9000	602	17.8	31.2	31.1	93.0	-	-

PV: polycythemia vera, secondary: secondary polycythemia, relative: relative polycythemia

Table 8. Patients with hypoparathyroidism

NAME	AGE	SEX	DIAG.	RBC(10^4 /cmm)	Hb(g/dl)	Ht(%)	sCa(mg/dl)	sP(mg/dl)	PTH(pg/ml)
R.I.	45	F	PHP	524	16.0	48.4	8.2	4.2	52.1
M.S.	17	M	PHP	479	15.2	44.1	8.8	3.5	11.6
Y.S.	52	M	PHP	550	16.9	49.9	8.7	3.8	95.0
Y.T.	32	M	PHP	551	17.6	51.3	9.1	3.3	175.0
H.N.	22	M	PHP	520	16.5	48.2	9.5	4.5	38.0
Y.M.	29	M	PHP	487	15.4	45.1	9.3	4.1	60.4
R.A.	14	F	IHP	437	12.7	36.3	9.0	4.8	1.0
M.A.	78	F	IHP	348	11.4	33.6	8.8	4.2	1.3
M.I.	54	F	IHP	430	12.6	39.0	8.2	4.2	5.2
R.O.	45	M	IHP	435	15.0	42.4	8.6	4.4	3.7
H.K.	40	M	IHP	451	13.7	40.9	8.4	3.6	9.8
S.K.	46	M	IHP	471	13.9	40.6	8.2	6.2	3.7
K.G.	36	M	IHP	422	13.8	40.7	7.9	4.7	3.0
M.T.	59	F	IHP	433	13.0	39.1	8.9	4.0	8.7
T.C.	55	F	IHP	433	11.7	38.8	8.2	3.9	1.0
T.N.	56	M	IHP	463	14.3	41.7	8.3	4.4	2.3
K.M.	36	M	IHP	446	14.2	40.8	9.1	3.2	1.0
K.M.	57	F	IHP	402	13.1	39.5	8.2	3.9	8.2
H.Y.	40	F	IHP	396	11.9	35.5	10.0	3.8	1.4
T.M.	52	F	IHP	391	12.0	35.8	7.8	5.9	1.0
M.I.	14	F	IHP	397	10.7	32.5	7.9	3.8	6.5
D.A.	18	M	IHP	486	15.0	44.7	8.7	3.3	2.1

PHP: Pseudohypoparathyroidism

PTH: parathyroid hormon

IHP: Idiopathic hypoparathyroidism

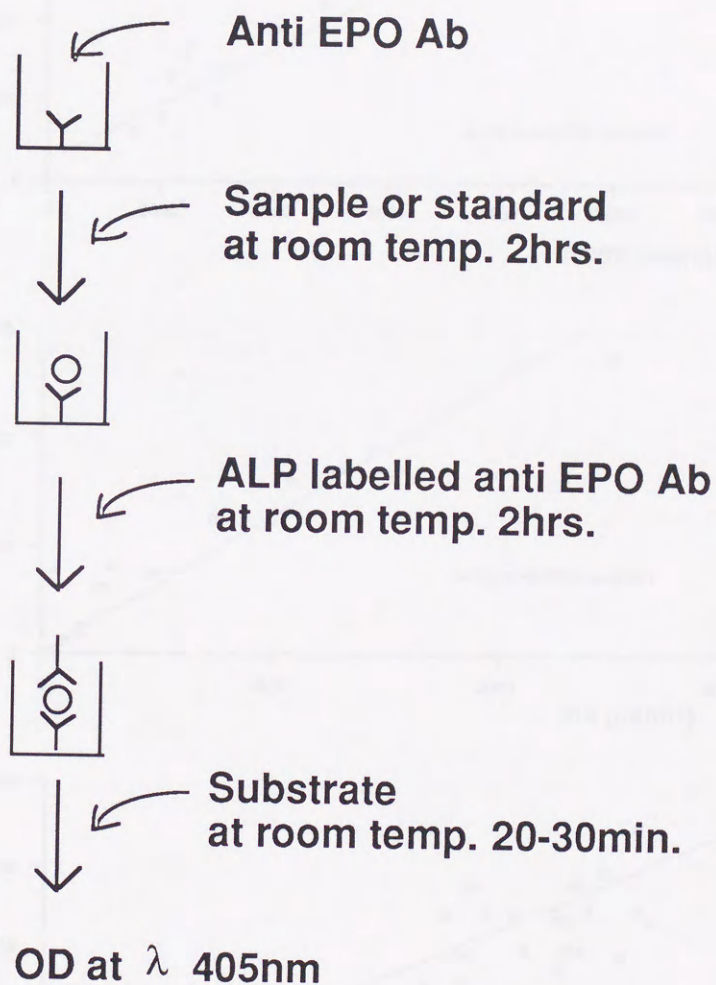


Fig.1 EIA method (assay for EPO)

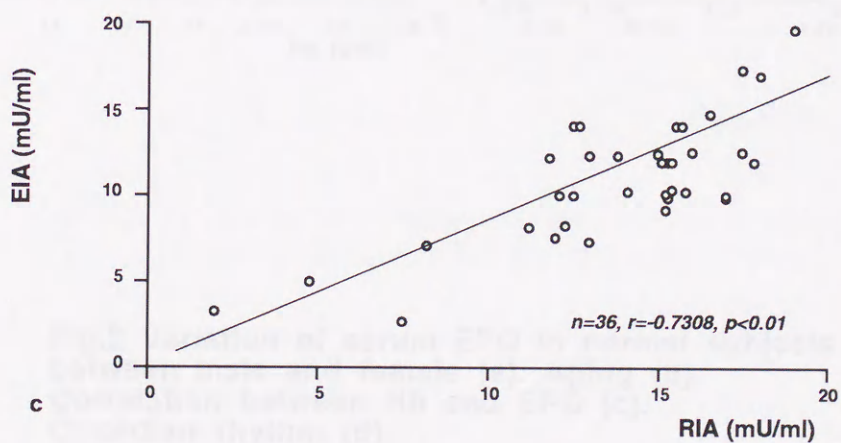
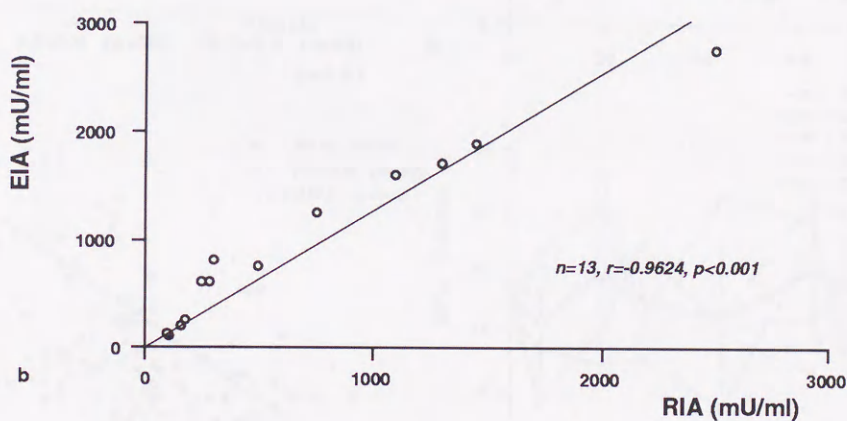
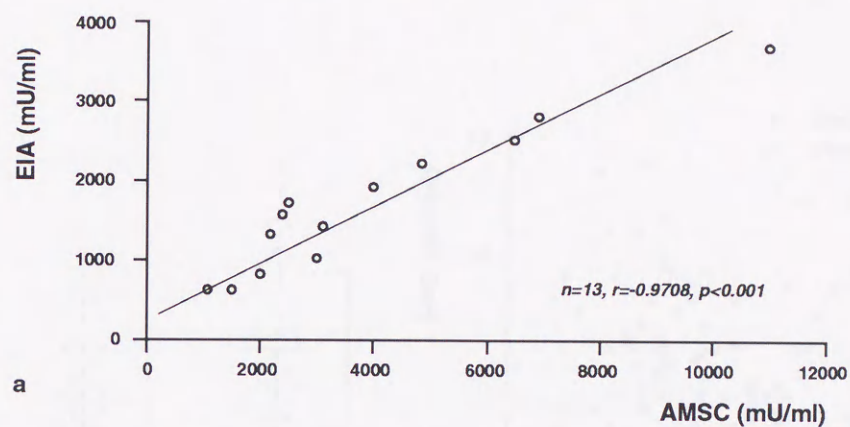


Fig.2 Correlations between assays with enzymeimmunoassay (EIA) and in vitro bioassay, anemic mouse spleen cell assay (AMSC) and radioimmunoassay (RIA).

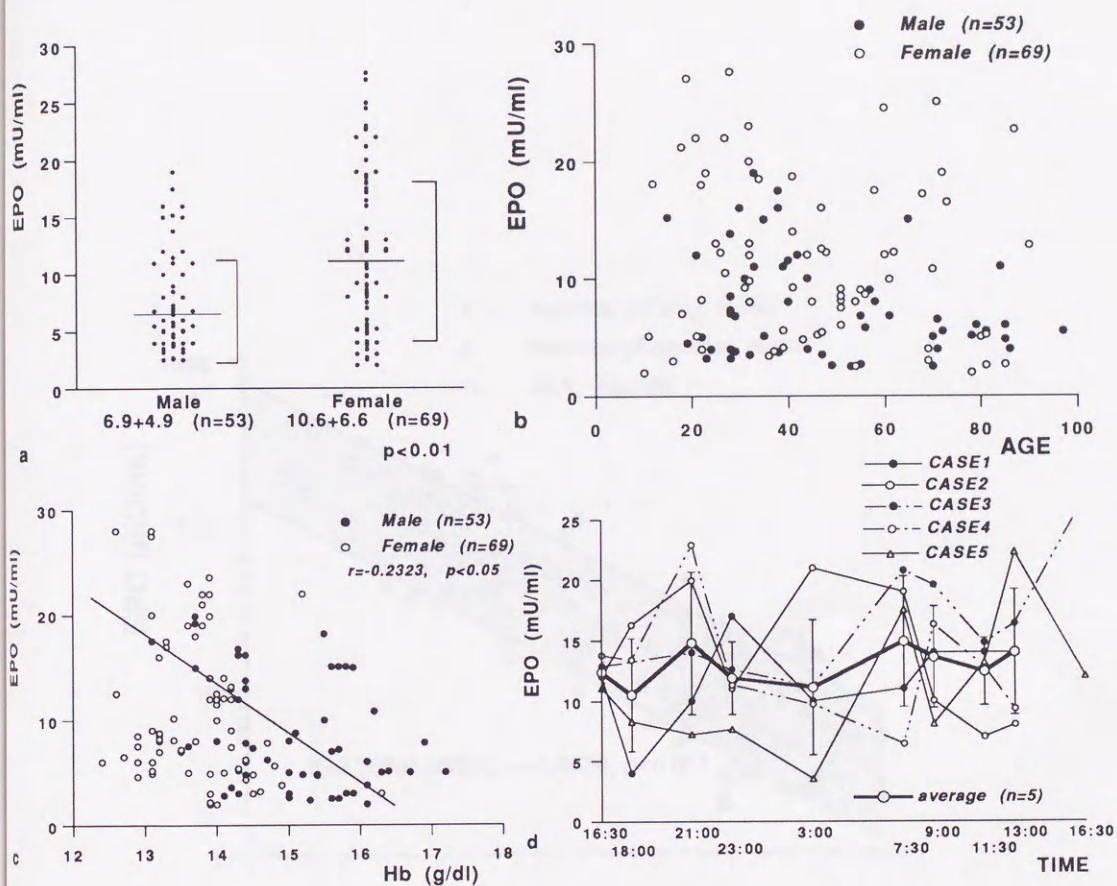


Fig.3 Variation of serum EPO in normal subjects between male and female (a). Aging (b). Correlation between Hb and EPO (c). Circadian rhythm (d).

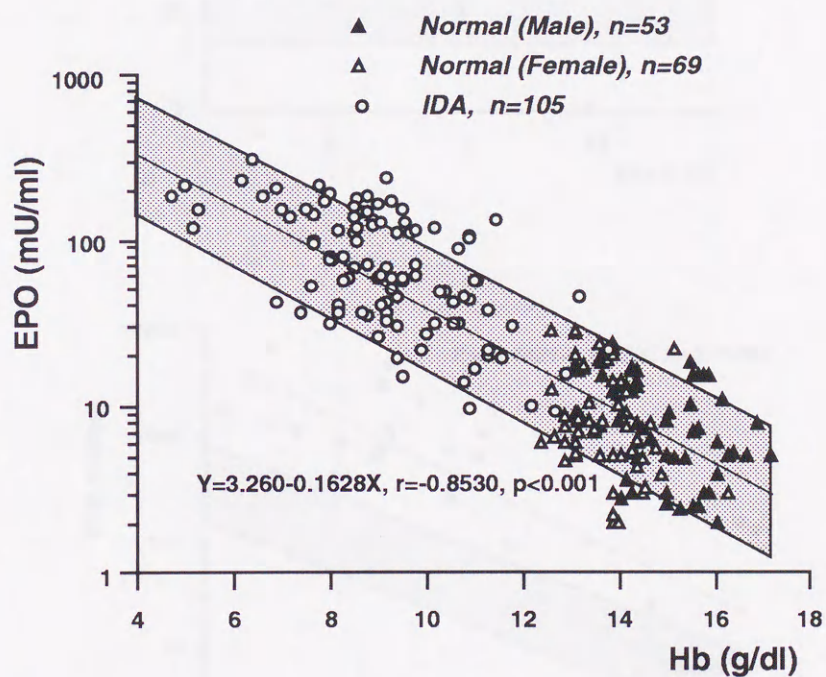


Fig. 4 Correlation between EPO and Hb in patients with iron deficiency anemia (IDA) and normal subjects.

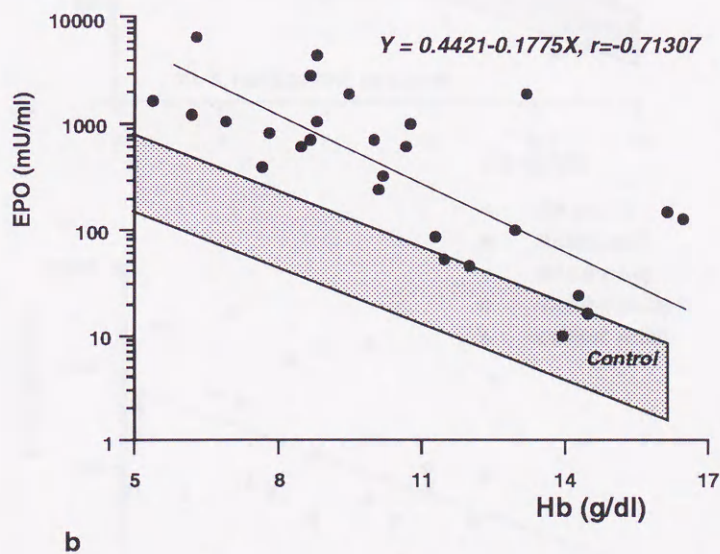
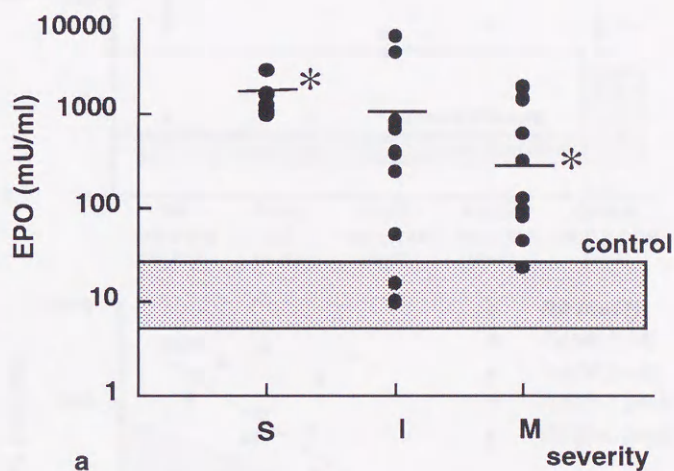


Fig.5 a: Serum levels of erythropoietin in patients with aplastic anemia

S:severe $1431.1 \pm 686.9 \text{ mU/ml}$ (n=6) I:intermediate $1233.1 \pm 2095 \text{ mU/ml}$ (n=10) M:mild $644.6 \pm 737.7 \text{ mU/ml}$ (n=11) control: $12.9 \pm 5.9 \text{ mU/ml}$,
* $p < 0.05$,

b: Correlation between EPO and Hemoglobin in patients with aplastic anemia

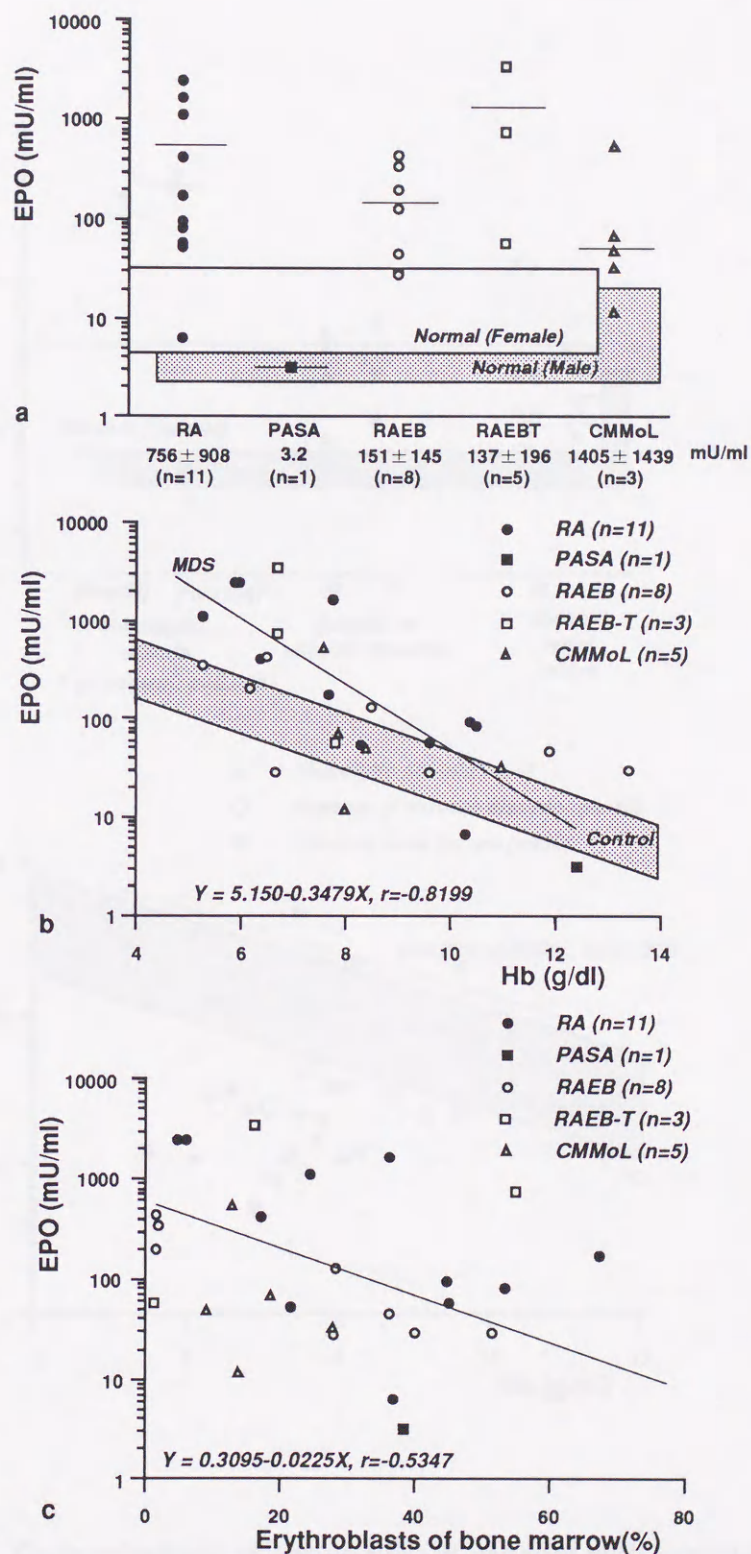


Fig.6 Concentrations of EPO in patients with myelodysplastic syndrome (a). Correlation between EPO and Hb in patients with RA (b), between EPO and percents of erythroblasts of bone marrow in patients with RAEB (c). RA: refractory anemia, PASA: primary acquired sideroblastic anemia, RAEB: RA with excess of blasts, RAEB-T: RAEB in transformation, CMMoL: chronic myelomonocytic leukemia.

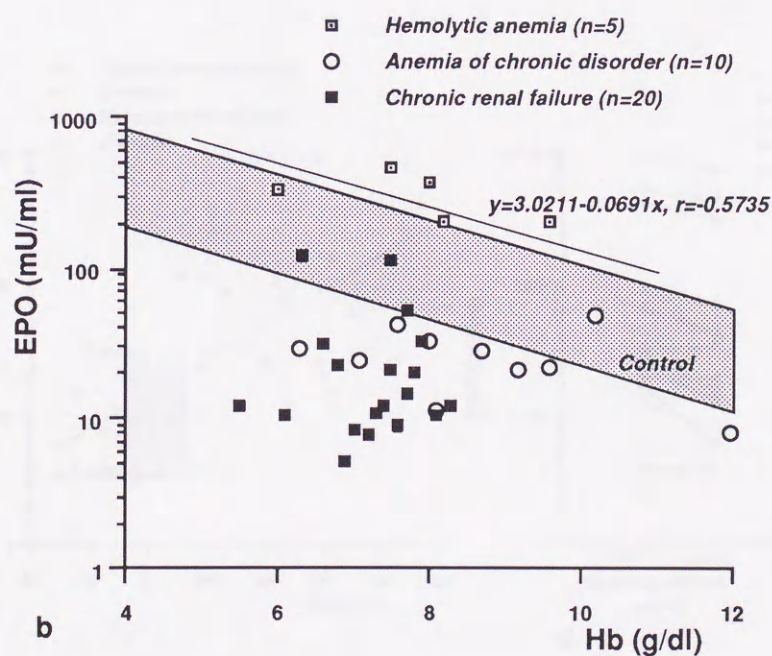
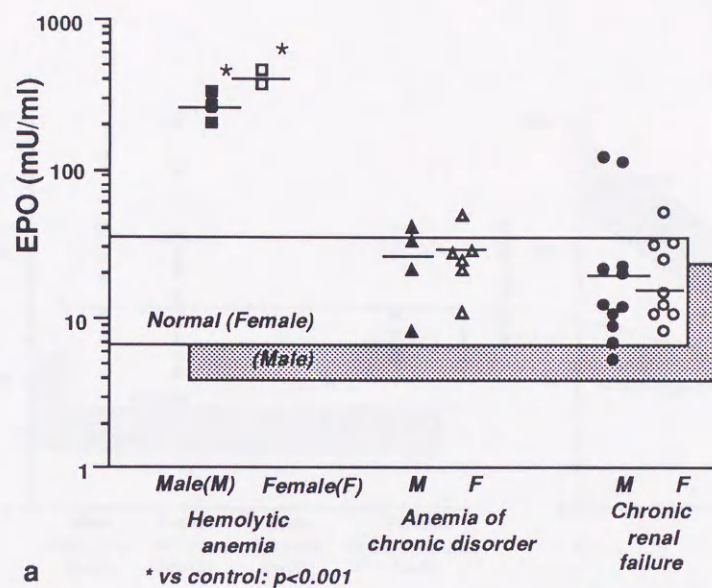


Fig. 7 Concentrations of serum EPO in patients with hemolytic anemia (HA), anemia of chronic disorder(ACD) and chronic renal failure(CRF) .

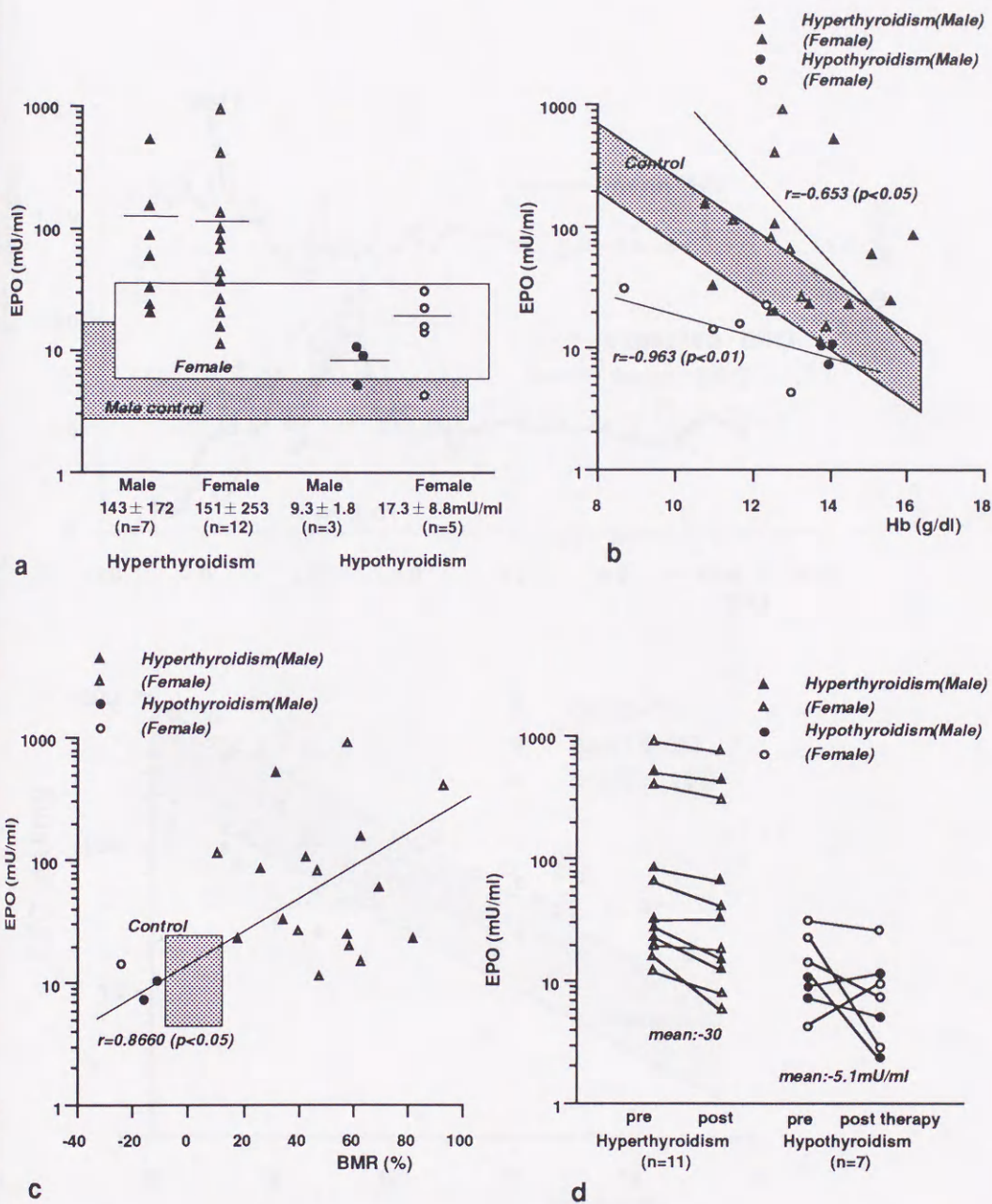
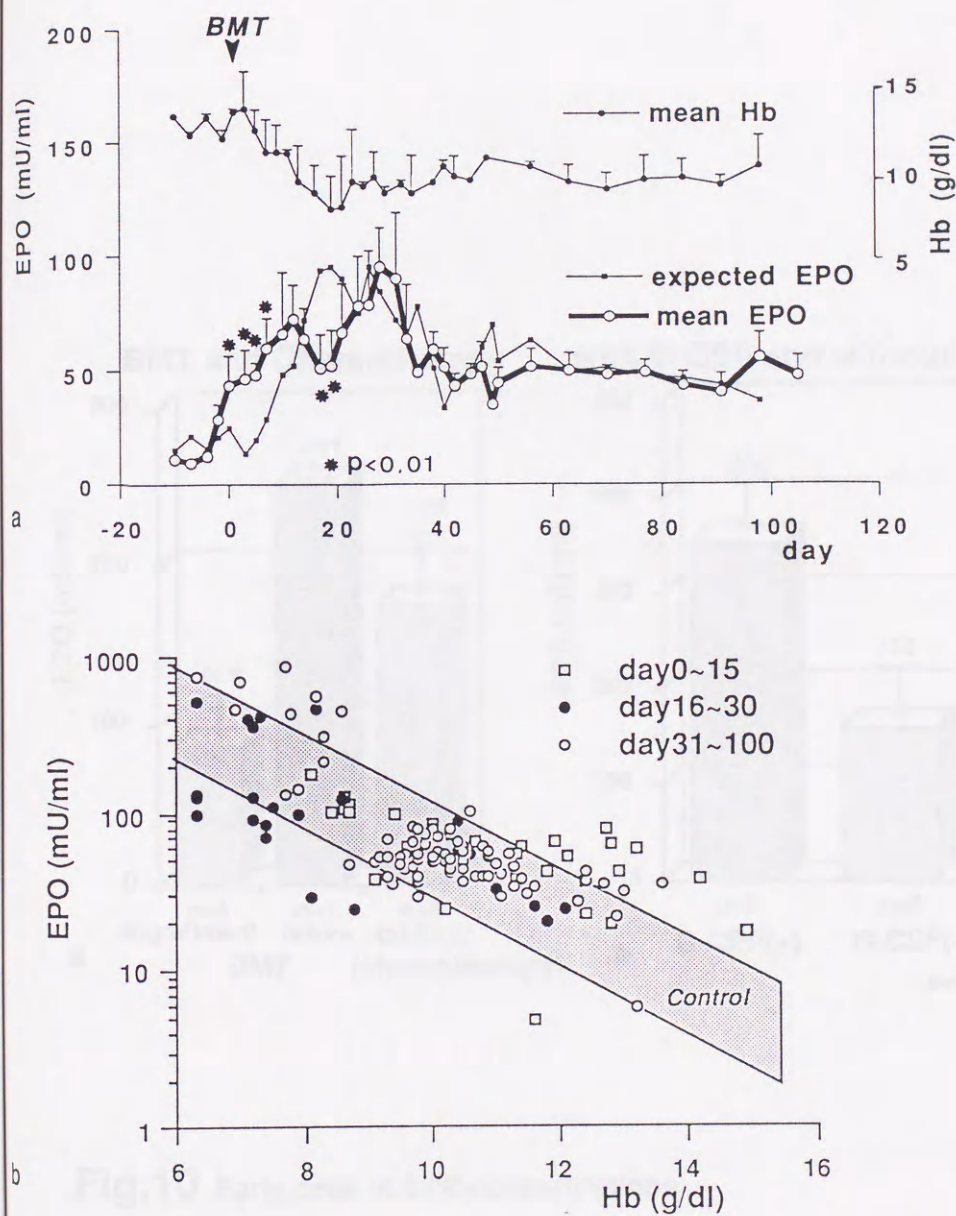


Fig.8 Concentrations of EPO in the patients with hyperthyroidism and with hypothyroidism(a).Correlation between EPO concentration and Hb concentration in both the hyper- and hypothyroid groups (b). Correlation between EPO concentrations and basal metabolic rates (BMRs) (c). EPO levels after treatment in hyperthyroid patients and hypothyroid patients (d).



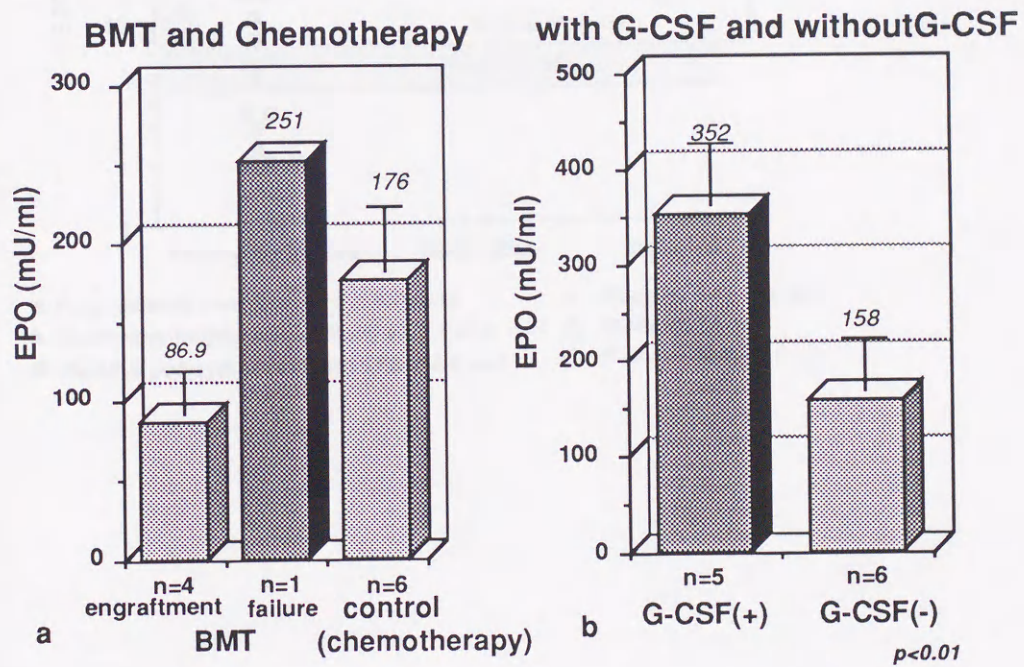


Fig.10 Early peak of EPO concentrations.

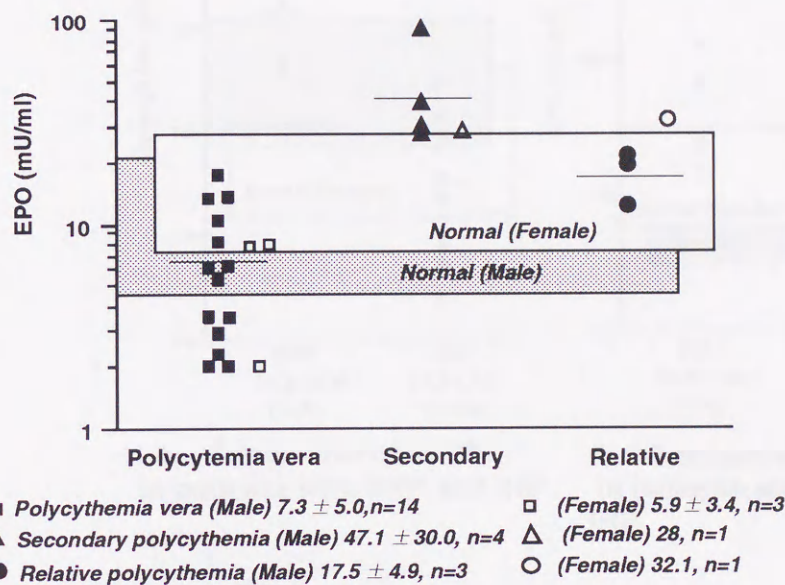
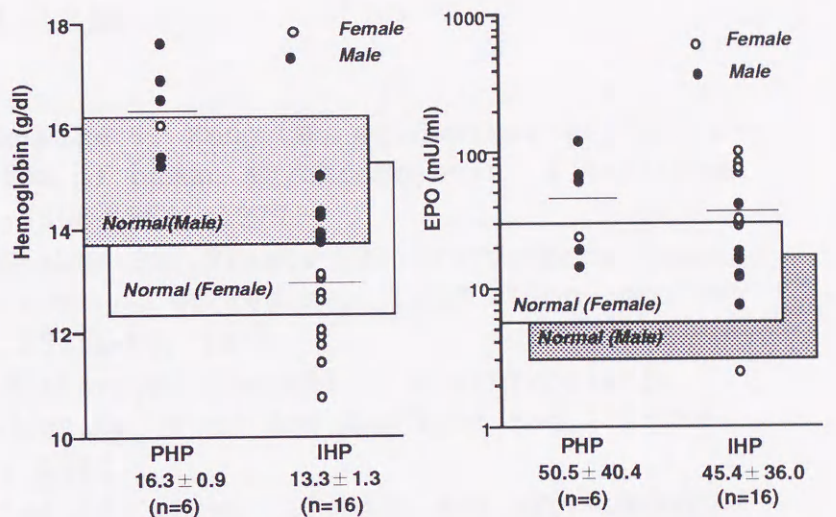
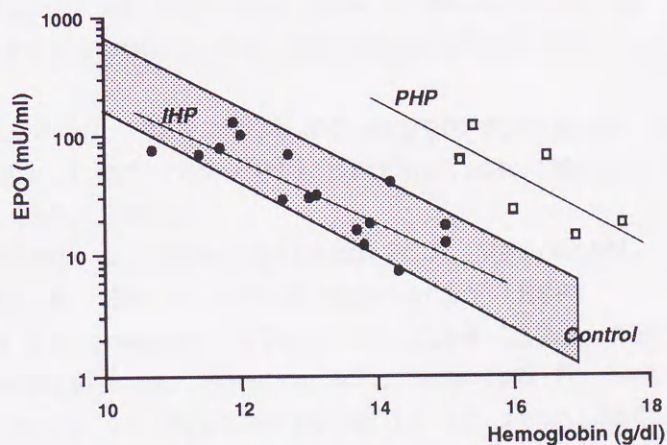


Fig. 11 Concentrations of EPO in patients with polycythemia vera (PV), secondary polycythemia and relative polycythemia.



a. Concentration of Hb in patients with PHP and IHP

b. Concentration of EPO in patients with PHP and IHP



c. Correlation between EPO and Hb in patients with PHP and IHP

□ PHP (n=6): $r=-0.7251$, $p<0.001$, $\log(\text{EPO})=6.299-0.290(\text{Hb})$
 ● IHP (n=16): $r=-0.8216$, $p<0.001$, $\log(\text{EPO})=4.641-0.239(\text{Hb})$
 Control (n=227): $r=-0.8530$, $p<0.001$, $\log(\text{EPO})=3.260-0.1628(\text{Hb})$

Fig. 12 Concentrations of EPO in patients with pseudohypoparathyroidism (PHP) type I and idiopathic hypoparathyroidism (IHP).

VI. 文献

- 1)Miyake T, Kung CK, Goldwasser E: Purification of human erythropoietin. J Biol Chem 252:5558-5564, 1977
- 2)Graber SE, Krantz SB: Erythropoietin and the control of red cell production. Ann Rev Med 25:51-66, 1978
- 3)Fisher JW: Control of erythropoietin production. Proc Soc Exp Biol Med 173:289-305, 1983
- 4)Lin FK, et al: Cloning and expression of human erythropoietin gene. Proc Natl Acad Sci USA 82:7580-7584, 1985
- 5)Jacobs KJ, et al: Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. Nature 313:806-810, 1985
- 6)Erslev AJ: The role of erythropoietin in the control of red cell production. Medicine 43:661-665, 1964
- 7)De Klerk G, Rosengarten PCJ, Vet RLWM, Goudsmit R: Serum erythropoietin (ESF) titers in anemia. Blood 58:1164-1170, 1981
- 8)Movassaghi N, Shoree NA, Hammond D: Serum and urinary of erythropoietin in iron deficiency anemia. Proc Soc Exper Biol Med 126:615-618, 1967
- 9)Erslev AJ, Wilson J, Caro J: Erythropoietin titers in anemic, non uremic patients. J lab Clin Med 109:429-433, 1987
- 10)Wognun AW: A Specific in vitro bioassay

for measuring erythropoietin levels in human serum and plasma. Blood 76(7):1323-1329, 1990

11) Kawamura A: Single in vivo bioassay for erythropoietin. Br J Haematol 77:424-430, 1991

12) 桜井忠実 他: フェニー ルヒドラジン処理貧血マウス脾細胞と³H-チミジンを用いたエリスロポエチン活性測定法の基礎的検討 臨床血液29(5):682-687, 1988

13) 千葉省三: エリスロポエチンの定量. 検査と技術 7:1003-1010, 1979

14) Mizoguchi H: Basic conditions for plasma levels of erythropoietin in normal subjects and anemia patients. Acta Haemat Jap 50:15-24, 1987

15) Egrie JC, Cotes PM, Lane L, et al: Developement of radioimmunoassays for human erythropoietin using recombinant erythropoietin as tracer and immunogen. J Immunol Methods 99:235-241, 1987

16) Goto M, et al: Characterization and use of monoclonal antibodies directed against human erythropoietin that recognize different antigenetic determinants. Blood 74(4):1415-1423, 1989

17) Ma DDF, et al: Assessment of an EIA for measuring human serum erythropoietin as compared with RIA and an *in-vitro* bioassay. Br J Haematol 80:431-436, 1992

18) 宍戸友明 他: EIA法によるヒト血漿エリスロポエチン(Epo)の測定---RIA法、AMSC法との比較---. 医学と生物学123(2):107-112, 1991

19) Iron deficiency anemia. WHO Tech Rep Ser

182:4-11, 1959

20)再生不良性貧血の診断,治療の手引き:厚生省特定疾患特発性造血障害研究班昭和62年度研究業績報告書.55-77, 1988

21)Bennett JM, et al: Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. Ann Int Med 103:626-629, 1985

22)Berlin NI: Diagnosis and classification of polycythaemia. Seminars in Haematology.12:339-351, 1975

23)Hellebostad M, et al: Serum immuno-reactive erythropoietin in healthy normal children. Br J Haematol 70:247-250, 1988

24)Wide L, Bengtsson C & Birgegård G: Circadian rhythm of erythropoietin in human serum. Br J Haematol 72:85-90, 1989

25)Emmanouel DS, et al: Metabolism of pure human erythropoietin in the rat. Am J Physiol 247(16):168-176, 1984

26)宍戸友明 他: Enzyme immunoassay (EIA)法によるヒト血漿エリスロポエチンの測定---生理的変動についての検討---.医学と生物学124(4):181-185, 1992

27)Mufi G and Galton DAG: Myelodysplastic syndromes: natural history and features of prognostic importance. Clin Haematol 15:953-971, 1986

28)Jacobs A, Lanowska-Wieczorek, Caro J, Bowen DT, et al: Circulating erythropoietin in patients with myelodysplastic syndromes. Br J Haematol 73:36-39, 1989

29)Bowen DT, et al: Serum erythropoietin and

erythropoiesis in patients with myelodysplastic syndromes. Eur J Haematol 44:30-32, 1989

30) Lee GR, et al: The anemia of chronic renal insufficiency. Wintrobe's Clinical Hematology-9th ed. pp893-898, 1992

31) Lee GR, et al: The anemia of chronic disorders. Wintrobe's Clinical Hematology-9th ed. pp840-851, 1992

32) Camacho J, et al: Serum erythropoietin levels in anaemic patients with advanced human immunodeficiency virus infection. Br J Haematol 82:608-614, 1992

33) Das KC, et al: Erythropoiesis and erythropoietin in hypo- and hyperthyroidism. J Clin Endocrinol Metab 40(2):211-220, 1975

34) Erslev AJ: Anemia of endocrine disorders. Hematology edited by William J Williams-4th ed. pp444-448, 1990

35) Fisher JW and Nakashima J: The role of hypoxia in renal production of erythropoietin. Cancer supplement. 70(4):928-939, 1992

36) Davies SV: Evaluation of erythropoiesis after bone marrow transplantation: quantitative reticulocyte counting. Br J Haematol 81:12-17, 1992

37) Grace RJ, et al: Changes in serum erythropoietin levels during allogenic bone marrow transplantation. Eur J Haematol 47:81-85, 1991

38) Beguin Y, et al: Circulating erythro-

poietin levels after bone marrow transplantation : inappropriate response to anemia in allogenic transplants. Blood. 77(4):868-873, 1991

39) Abedi MR, et al: Serum erythropoietin levels after bone marrow transplantation. Transpl Proc 22(1):205, 1990

40) Fukushima N, Nishima H, Koshihara Y and Ohkawa H: Enhanced hematopoiesis in vivo and in vitro by splenic stromal cells derived from the mouse with recombinant granulocyte colony-stimulating factor. Blood 80(8):1914-1922, 1992

41) Schuster SJ, et al: Cellular sites of extrarenal and renal erythropoietin production in anaemic rats. Br J Haematol 81:153-159, 1992

42) Koeffler HP, Goldwasser E: Erythropoietin radioimmunoassay in evaluating patients with polycythemia. Ann Intern Med 94:44-47, 1981

43) Garcia JF, Ebbe SN, Hollander L, et al: Radioimmunoassay of erythropoietin: circulating level in normal and polycythemic human beings. J Lab Clin Med 99:624-635, 1982

44) Cotes PM, Dore CJ, Liu YJA, Lewis SM, et al : Determination of serum immunoreactive erythropoietin in the investigation of erythrocytosis. N Eng J Med. 315:283-287, 1986

45) Birgegard G and Wide L: Serum erythropoietin in the diagnosis of polycythaemia and after phlebotomy treatment. Br J Haematol 81:603-606, 1992

46) Casadevall N, Vainchenker W, Lacombe C, et al: Erythroid progenitors in polycythemia vera: demonstration of their hypersensitivity to erythropoietin using serum free cultures. Blood 59:447-451, 1982

47) Dudley JM, Westwood N, Eridani S and Pearson TC: Primary polycythemia: positive diagnosis using the differential response of primitive and mature erythroid progenitors to erythropoietin, interleukin 3 and alpha-interferon. Br J Haematol 75:188-194, 1990

48) Brickman AS, Carlson HE, et al: Pseudo-hypoparathyroidism: Target organ resistance to parathyroid hormone and other metabolic defects. Cohen MP (eds) Hormone resistance and other endocrine paradoxes :p92, 1987

49) Chabardes D, Gagnan-Brunette M, Imbert-Teboul M, et al: Adenylate cyclase responsiveness to hormones in various portion of the human nephron. J Clin Invest 65:439-448, 1980

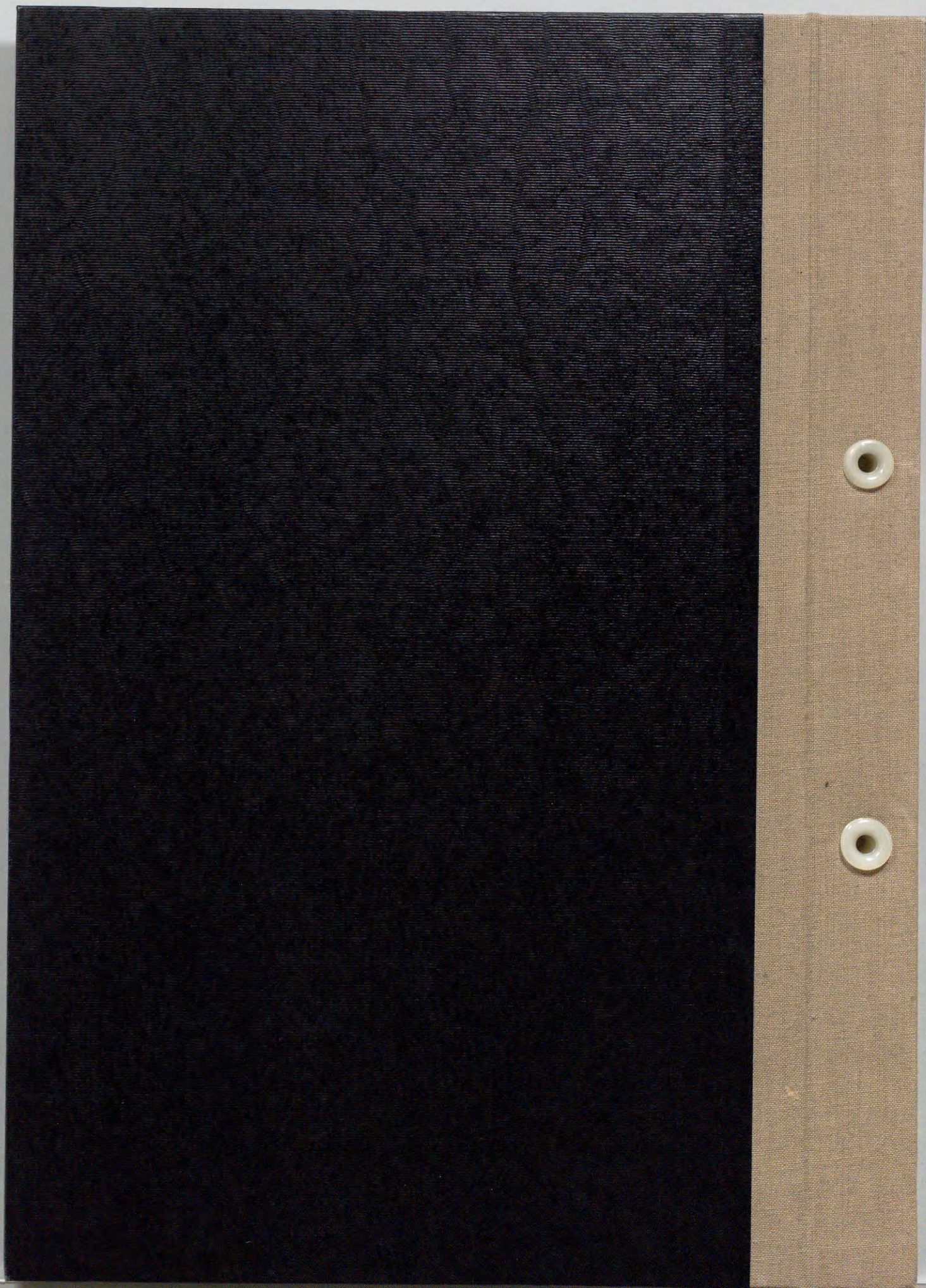
50) Muff R and Fischer JA: Parathyroid hormone receptors in control of proximal tubule function. Ann Rev Physiol 54:67-79, 1992

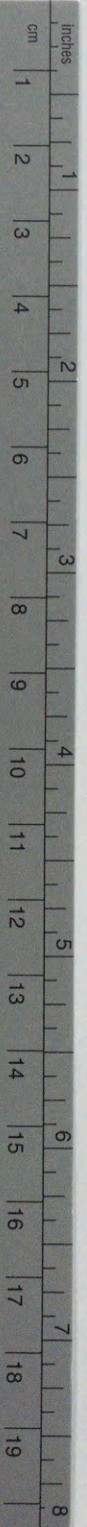
51) Koury ST, Bondurant MC and Koury MJ: Localization of erythropoietin synthesizing cells in murine hypoxic kidneys by in situ hybridization. Blood 71:524-527, 1988

52) Eckardt KU, Kurtz A, Bauer C: Regulation of erythropoietin formation is related to proximal tubular function. Am J Physiol 256:F942, 1989

53)Schuster SJ, Koury ST, Bohrer M et al:
Cellular sites of extrarenal and renal
erythropoietin production in anaemic rats. Br
J Haematol 81:153-159, 1992

54)Moses AM, Weinstock RS, Levine MS et al:
Evidence for normal antidiuretic response to
endogenous and exogenous arginine vasopressin
in patients with guanine nucleotide-binding
stimulatory protein-deficient pseudohypopara-
thyroidism. J Clin Endocrinol Metab 62:221-
227, 1986





Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

